

SÉRIE E,
N° 67

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR L'OBTENTION

DU DOCTORAT D'ÉTAT EN PHARMACIE

PAR

Claude SAUTIER

1^{re} THÈSE : Mesure des vitesses de diffusion du sodium et du potassium, chez l'homme, à l'aide des radio-éléments.

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 10 Juillet 1957 devant la Commission d'Examen.

MM. COURTOIS, *Président.*

CAVIER.

MALANGEAU.

} *Examineurs.*

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

1958

SÉRIE E,
N° 67

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR L'OBTENTION

DU DOCTORAT D'ÉTAT EN PHARMACIE

PAR

Claude SAUTIER

1^{re} THÈSE : Mesure des vitesses de diffusion du sodium et du potassium, chez l'homme, à l'aide des radio-éléments.

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 10 Juillet 1957 devant la Commission d'Examen.

MM. COURTOIS, *Président*.

CAVIER.

MALANGEAU.

} *Examineurs.*

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE MAURICE DECLUME

1958





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION.

MM. René FABRE, Doyen, Membre de l'Institut.
R. DELABY, Assesseur.
G. CUVIER, Secrétaire Général.
L. JEANDEL, Secrétaire.
M^{lle} BIDEAU, Commis.
M^{me} CARON, Commis.
M^{me} CELLIER, Commis.
M^{lle} MORIN, Commis.
A. QUILLIOT, Rédacteur.
M^{lle} M. DENNY, Rédactrice.
M^{me} M.-L. ESPINASSE, Rédactrice.

PROFESSEURS.

MM. FABRE	Toxicologie, Membre de l'Institut.
DELABY	Pharmacie chimique.
PICON	Chimie minérale.
MASCRE	Botanique.
JANOT	Pharmacie galénique.
CHARONNAT	Chimie organique.
VALETTE	Pharmacodynamie.
BEDEL	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
PARIS	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
GUILLLOT	Physique.
GAUTIER	Chimie analytique.
M ^{lle} LAMBIN	Microbiologie.
MM. RAOUL	Zoologie Appliquée.
COURTOIS	Chimie Biologique.
DOMANGE	Hydrologie et Hygiène.
CRETE	} Professeurs à titre personnel.
MORETTE	
TRUHAUT	
CAVIER	} Professeurs sans chaire.
MOREAU	
GUY	
GERMAN	

Doyen Honoraire : M. RADAIS.

PROFESSEURS HONORAIRES.

MM. DELEPINE et LEBEAU, Membres de l'Institut.
HERISSEY, LAUNOY, FLEURY.

MAITRES DE CONFÉRENCES.

MM. FLAHAUT	Sciences physiques et chimiques.
RENAULT J.	Sciences physiques et chimiques.
PIETTE	Sciences naturelles.
QUEVAUVILLER	Sciences naturelles.
DAMIENS	Sciences physiques et chimiques.
DEYSSON	Sciences naturelles.
MALANGEAU	Sciences appliquées.
N	Sciences naturelles.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES.

MM. BOURDON	Chimie analytique (1 ^{re} année).
CORRIEZ	Physique.
HARISPE	Chimie générale et pharmaceutique.
MANGEOT	T.P. 4 ^e année.
RENAULT H.	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années).
DESVIGNES	Microbiologie.
BORY	Sérologie.
PELLERIN	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années).
SAVEL J.	Parasitologie.
M ^{lle} ROLLEN	Biologie végétale.
M. LECLERC	Chimie biologique.
M ^{lle} LONGUEVALLE	Service Examens Chimie.

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE.

M. GOUTAREL	Chef T.P. Pharmacotechnie galénique.
M ^{lle} MORIN	Chef T.P. Pharmacodynamie.
M. LUSINCHI	Chef T.P. Pharmacotechnie chimique.

BIBLIOTHÈQUE.

Conservateur : M. GARNIER.

Bibliothécaires : M^{lle} LAVAUD, M^{me} KREHMER, M^{mo} DESGOIFFES.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. E. COURTOIS,

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Pharmacien-chef des Hôpitaux de Paris,
Chevalier de la Légion d'Honneur,

qui, m'ayant initié à la recherche dans l'internat des Hôpitaux, a bien voulu diriger ce travail et accepter la présidence de cette thèse.

En hommage de profonde gratitude et de respectueux attachement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CAVIER,

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Pharmacien-chef du Groupe Hospitalier G. Roussy et P. Brousse,

A MONSIEUR MALANGEAU,

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Pharmacien-chef des Hôpitaux Psychiatriques de la Seine,

qui ont bien voulu examiner ce travail.

Respectueux hommage.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX,

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. CHEYMOL,

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. HAMBURGER,

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. LAROCHE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR JUSTIN-BESANÇON,

qui s'est intéressé à ce travail et m'a permis de le réaliser.

A MES PARENTS.

A MES BEAUX-PARENTS.

A MA FEMME.

A MES ENFANTS.

A MES AMIS.

A LA MÉMOIRE DU DOCTEUR F. CARIDROIT.

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. TREMOLIERES,

Chef de la Section de Nutrition de l'Institut National d'Hygiène,

*dont les conseils éclairés et le
dynamisme sont à l'origine de ce
travail.*

*En témoignage de profonde
reconnaissance.*

A TOUS CEUX QUI FORMENT L'ÉQUIPE DU LABORATOIRE,
POUR LEUR AIDE GÉNÉREUSE ET EFFICACE,

MM. R. DERACHE, R. LOWY, L. CARRE,
Mlles C. FLAMENT, G. GRIFFATON, M. F. POISSON,
Mme J. PASCHOUD.

INTRODUCTION.

L'étude de la diffusion du Potassium, ion essentiellement intracellulaire, par rapport à celle du Sodium surtout extracellulaire, est d'une importance fondamentale pour l'étude des phénomènes intéressant la membrane cellulaire.

La sélectivité protoplasmique a d'abord été étudiée à l'aide des dosages plasmatiques et tissulaires de divers ions. Ensuite les mesures des espaces cellulaire et extracellulaire ont utilisé différents corps qui, injectés par voie intraveineuse, diffusent dans un compartiment bien déterminé.

Deux améliorations techniques devaient récemment faire progresser les recherches :

1°) La photométrie de flamme : elle est surtout applicable au Sodium (Na^+) et au Potassium (K^+) dont le dosage devint alors rapide et précis.

2°) Les radioéléments : utilisés comme traceurs, ils ont rendu possibles des mesures fines, précises et beaucoup plus physiologiques. De plus les radioisotopes des métaux alcalins sont faciles à manier et peu toxiques.

L'injection intraveineuse de radioisotopes a permis l'étude de leur diffusion dans l'organisme et de leur échange progressif avec les ions ordinaires.

FORBES [23] et CORSA [15] mesurent ainsi, au bout de 24 h, lorsque l'équilibre est atteint, les quantités échangeables de Na^+ et de K^+ .

Ces mesures ont permis d'établir diverses hypothèses sur la répartition sélective des ions à travers les mem-

branes. La théorie de LING [45] qui semble la plus en accord avec les faits actuellement connus, met en valeur l'existence de complexes protéines-dérivés phosphoré-potassium.

Le but de nos recherches a été d'essayer d'établir une méthode permettant l'étude de la différenciation cellulaire des ions. Nous avons proposé la mesure conjointe des quantités échangées de Na^+ et de K^+ , à différents temps après l'injection intraveineuse des radioisotopes.

Le problème technique délicat qui s'est posé à nous était de séparer les radio Na^+ et radio K^+ . Après avoir entrepris l'étude des méthodes de séparation physique des radioéléments, nous avons essayé divers procédés de précipitation chimique. Nous avons finalement utilisé la chromatographie d'échange d'ion. En déterminant la précision de notre technique nous avons étudié divers problèmes soulevés par l'usage de la radioactivité et de la photométrie de flamme. Nous avons mis ainsi en évidence l'influence de la concentration en acide chlorhydrique sur la déviation photométrique due au Na^+ ou au K^+ .

L'application de notre méthode à des sujets normaux nous a permis d'observer une nette différence entre les courbes des quantités échangées de Na^+ et de K^+ en fonction du temps. Nous avons pu appliquer notre méthode à l'étude de sujets recevant des dérivés cortisoniques ainsi qu'à des Addisoniens et à des cirrhotiques.

Nous avons finalement essayé d'interpréter nos résultats à la lumière des théories récentes sur la sélectivité cellulaire des ions.

CHAPITRE I.

GÉNÉRALITÉS SUR LA MESURE DES ESPACES DIFFUSIBLES.

Les mesures de diffusion ont été utilisées, soit pour définir les différents espaces extra et intracellulaires, soit pour calculer le Sodium et le Potassium échangeables. Elles ont permis d'établir diverses théories sur les phénomènes de membrane.

1. — La mesure d'espace extra et intracellulaire.

L'individualisation des compartiments corporels remonte à BICHAT, qui créant l'anatomie générale, distingue « un système cellulaire, un système nerveux et un système synovial ». C. ACHARD et son école précisèrent les caractères chimiques et physio-pathologiques du système lacunaire « ensemble des cavités discontinues qui renferment la plus grande partie des liquides de l'organisme, répandus dans les interstices des cellules et des tissus, surtout dans le tissu conjonctif et les cavités séreuses » (1).

ACHARD caractérise les espaces lacunaires par leur taux de chlorure de sodium. Son élève LOEPER montre la perfection des mécanismes régulateurs de ces concentrations, mais aussi leurs faibles variations dans les cas pathologiques et donc leur intérêt limité. Ils tournèrent cette difficulté par les études de bilans, mais il fallut attendre les mesures d'espaces de diffusion pour faire progresser de façon précise cette question.

Les espaces sont alors conçus, de façon très schématique, comme des sortes de récipients limités nettement par des membranes. A la suite de DARROW [16] et de GAMBLE [24], HAMBURGER [29] distingue ainsi l'espace extra-cellulaire (20 % du poids du corps) qui comprend l'espace plasmatique (5 %) et l'espace interstitiel (15 %). Ce dernier est évalué par différence entre les mesures des espaces extracellulaire et plasmatique.

L'espace cellulaire (50 %) est évalué en faisant une mesure de diffusion dans l'eau totale du corps (70 % environ) de laquelle on soustrait la mesure de l'espace extracellulaire.

Les différents espaces sont mesurés, par diffusion, en injectant dans la circulation une quantité Q d'une substance qui se répartit d'une façon homogène et exclusive dans le secteur à mesurer. En dosant alors sa concentration C dans ce secteur on déduit le volume de celui-ci par l'équation $V = \frac{Q}{C}$.

La plupart des corps étant éliminés par l'urine, il faut doser la quantité E excrétée dans l'urine entre le moment de l'injection et celui du prélèvement sanguin. On a alors :

$$V = \frac{Q - E}{C}$$

Plusieurs prélèvements permettent de tracer, sur papier semi-logarithmique, une droite qui, selon CACHERA, est extrapolée au temps 0 et « fournit la valeur idéale de la concentration telle qu'elle apparaîtrait si la diffusion était instantanée », [10]. Cette correction tient compte de toutes les pertes par élimination rénale ou extrarénale et par métabolisation.

Sont utilisés pour ces mesures des traceurs qui diffusent exclusivement, ou presque, dans un secteur déterminé et sont facilement dosables par une méthode chimique ou physique :

a) Les méthodes chimiques utilisent des corps qui ont une diffusion aussi bien limitée que possible.

Pour mesurer l'eau totale, des substances traversant les membranes cellulaires et diffusant comme l'eau elle-même ont été proposées : l'antipyrine par SOBERMAN et JUSTIN-BESANÇON [68, 33], l'acétylaminoantipyrine par TREMOLIERES [75] ; l'urée par MARSCHALL [51].

Certaines substances ont des propriétés physiques se rapprochant de celles des protéines plasmatiques dont elles épousent l'espace : les Bleu Evans et de Chicago proposés par GIBSON [26] et CACHERA [11] ; la polyvinylpyrrolidone par POULAIN [63].

Parmi les corps qui diffusent presque exclusivement dans l'espace extracellulaire, ont été utilisés : le thiocyanate par CACHERA [12], l'Inuline par GAUDINO [25] et le Mannitol par DUIZEND [19].

Les mesures se font en général pendant la première heure qui suit l'injection. Après ce temps, ces corps peuvent diffuser dans diverses cellules et notamment dans les globules rouges.

b) Les méthodes physiques, plus récentes, font appel aux radioéléments. Sont utilisés généralement les isotopes radioactifs des constituants caractéristiques d'un secteur, dont ils diffèrent seulement par l'émission des radiations, leurs autres propriétés physiques étant les mêmes et à fortiori leurs propriétés chimiques.

L'eau totale du corps peut être mesurée avec l'oxyde de Deutérium ou eau lourde $^2\text{H}_2\text{O}$ et l'eau au tritium $^3\text{H}_2\text{O}$. Ces eaux marquées suivent parfaitement le sort de l'eau $^1\text{H}_2\text{O}$ et on obtient des espaces de diffusion très satisfaisants. Il peut cependant se produire des échanges entre ^1H , le Deutérium ^2H et le tritium ^3H , mais MOORE estime cette perte métabolique à moins de 5 % [57].

Le volume plasmatique est déterminé à l'aide de protéines iodées marquées avec ^{131}I ; le volume globulaire à l'aide de globules rouges marqués au ^{59}Fe ; au ^{51}Cr , au ^{32}P et au ^{42}K .

Le volume extracellulaire étant constitué surtout de ClNa le ^{38}Cl et le ^{24}Na sont notamment utilisés. Le ^{38}Cl a

été proposé par MANERY [49] mais il peut, selon WILDE [83], pénétrer dans les cellules musculaires après une augmentation du K extracellulaire. Le ^{38}Cl a été retrouvé aussi dans le foie, les globules rouges, la peau, les testicules, les muqueuses gastrique et pylorique.

La diffusion du ^{24}Na a été étudiée par FAUVERT et LOVERDO [21] qui, par l'analyse mathématique de la courbe de décroissance du Na radioactif, ont montré qu'on pouvait distinguer trois espaces successifs durant les trois premières heures. La diffusion se poursuit d'ailleurs plus longtemps et dans divers secteurs, notamment dans les os, EDELMAN [20].

Le moment de la mesure est donc très important : dans le cas du ^{24}Na , elle se fait généralement entre 1 h et 3 h après l'injection, pour coïncider avec l'espace extracellulaire habituel. KALTREIDER [35] trouve ainsi 3 heures après l'injection un espace Sodium de 24,8 %, qui atteint après 6 heures 25, 9 % du poids du corps. Dans le cas de la mesure du compartiment extracellulaire par l'ion SCN^- , les valeurs les plus reproductibles sont établies après 45 minutes, chez le sujet normal. CACHERA [12] trouve ainsi en extrapolant à partir de 3 prélèvements, 21,1 % du poids du corps. MACH [48] qui fait un prélèvement 1 heure après l'injection et tient compte de la quantité de SCN^- éliminé, trouve une valeur moyenne de 26,4 %.

Chez des sujets pathologiques, les mesures effectuées 45 minutes après l'injection, donnent des résultats incohérents, non reproductibles. Dans les cas d'œdèmes et d'épanchements, la diffusion est alors mesurée 3 ou 6 heures après l'injection.

Mais, chez des malades atteints d'une même affection, les modalités de diffusion diffèrent grandement. Dans la cirrhose avec ascite, étudiée par FAUVERT, l'équilibre du liquide d'ascite avec le plasma peut s'établir en 1 h ou en 5 h.

En résumé, avec les mesures d'espaces, on obtient des valeurs qui peuvent différer grandement suivant : la

substance utilisée, le temps choisi pour la mesure, et les conditions expérimentales. Les mesures dites d'espaces ne sont en fait que la mesure de l'espace de diffusion d'une substance donnée, en un temps et dans des conditions données. Ces méthodes ne peuvent fournir que des approximations. Elles ne permettent pas de parler vraiment de l'espace extracellulaire, mais seulement de l'espace ^{24}Na , ou l'espace ^{38}Cl , ou de l'espace SCN^- déterminé dans un temps de diffusion donné, suivant telle méthode, sur tel type de sujets.

2. — La mesure de capital total échangeable.

C'est donc la diffusion et le métabolisme de différents corps qui sont alors étudiés. L'espace mesuré n'est plus anatomique, mais métabolique.

L'étude de la diffusion des éléments radioactifs dans l'organisme, notamment ^{24}Na et ^{42}K , a montré que les différents tissus et les différentes cellules se marquaient au fur et à mesure que l'ion radioactif s'échangeait avec le Na^+ et le K^+ de l'organisme pour atteindre un équilibre. Le Sodium, ion essentiellement extracellulaire, passe ensuite dans les os, KALTREIDER [35] et dans diverses cellules dont les cellules gastriques, MANERY [50]. Dans certains cas pathologiques, tels les cas de surcharge, le Na^+ peut passer plus largement encore dans les tissus.

Le ^{42}K injecté se fixe d'abord au niveau des muscles et des reins, puis du foie, du cœur et des poumons. L'équilibre avec le K^+ des autres cellules est presque atteint vers 24 h (90 % du K d'après HEVESY) [30]. Les 10 % restant représentant une partie du K^+ du cerveau, des os et des globules rouges. A la 40^e heure, 95 % du K^+ sont échangés.

Puisque les mesures des espaces de diffusion à un moment donné ne permettaient pas l'étude des cas pathologiques, on s'est efforcé de mesurer les masses totales échangeables, à l'aide des radioéléments. En effet, en

24 heures, 90 % au moins de la totalité des ions Na^+ et K^+ sont échangés avec l'ion radioactif injecté.

On injecte une quantité connue d'un radio-isotope, puis après 24 heures, les prélèvements sanguins et urinaires permettent de déterminer l'activité spécifique du corps dans le plasma et la quantité de corps radioactif excrétée depuis le début de l'épreuve.

La quantité échangée est :

$$E = \frac{\text{Radioactivité injectée} - \text{Radioactivité excrétée}}{\text{Radioactivité plasmatique} \frac{\%}{\text{Concentration du corps } \%}}$$

(en c. par m.) (en c. par m.)

Le dénominateur représente l'activité spécifique du plasma.

Cette méthode a été appliquée par FORBES et PERLEY au Na^+ [23] et par CORSA au K^+ [15]. On exprime en général les résultats en mEq par kg : suivant les auteurs, chez l'homme :

$$\text{Na}_0^+ = 41,9 \text{ à } 43,9 \text{ mEq/kg}$$

$$\text{K}_0^+ = 46,3 \text{ à } 51,1 \text{ mEq/kg}$$

chez la femme : les résultats sont inférieurs de 10 à 30 %.

Cette méthode élimine les variations de diffusion suivant le temps puisqu'elle se situe au point final, au moment de l'équilibre. Ses résultats sont bien reproductibles même chez des malades, mais les variations sont de faibles amplitudes. Il serait plus intéressant de se placer au moment où la répartition des ions se fait différemment entre les cellules et le liquide extracellulaire. Ceci nous amène à passer en revue les théories sur les phénomènes de membranes.

3. — Données actuelles sur les phénomènes réglant la répartition du Na et du K dans l'organisme.

A) LES THÉORIES DE SÉLECTIVITÉ IONIQUE.

La notion classique des espaces extra et intracellulaires reposait sur l'hémi-perméabilité des membranes. On admettait ainsi que pour des ions comme le Na^+ et le K^+ ,

bien diffusibles, mais inégalement répartis, l'ion Na^+ quatre fois plus gros que l'ion K^+ sous sa forme hydratée, ne pénétrait pas dans les cellules, arrêté qu'il était par d'hypothétiques pores. C'était la théorie de BOYLE-CONWAY [8]. Cette théorie rendait assez mal compte de l'expansion progressive de l'espace Na pendant 24 heures au moins.

Cette théorie fut abandonnée lorsque LEVI et USSING [43] [78] montrèrent que le ^{24}Na pénétrait dans les cellules avec une vitesse de même ordre que celle du K^+ . STEINBACH [71] imagina alors la théorie de l'extrusion active du Na , par un processus métabolique qui ramenait le Na à la périphérie de la cellule.

LING montra le peu de vraisemblance de la théorie de STEINBACH. En effet, l'énergie qui serait nécessaire pour chasser le Na des cellules serait incompatible avec les ressources énergétiques normales ; d'autre part une cellule mise à 4° , ne consommant pas d'énergie, maintient parfaitement le gradient de concentration du K^+ contre le Na^+ .

B) LA THÉORIE DE LING [45].

Elle semble le mieux rendre compte des faits actuellement acquis. Elle repose sur deux séries de données différentes :

1°) d'abord sur les propriétés des résines d'échange d'ions, susceptibles de retenir le K^+ de préférence au Na^+ . Une résine acquiert ce pouvoir lorsque les charges anioniques se trouvent fixées, c'est-à-dire lorsque les chaînes moléculaires de styrène qui forment la résine sont liées entre elles par un grand nombre d'autres molécules, GREGOR [28]. Le pourcentage de « liaisons croisées » est alors élevé, la résine est rigide et les charges négatives sont fixes. Dans ces conditions, l'ion K^+ , quatre fois plus petit pour une charge à peu près égale à celle de l'ion Na^+ , se trouve avoir beaucoup plus de chance que l'ion Na^+ d'être fixé par ces charges anioniques immobiles.

2°) Les autres bases de la théorie de LING sont d'ordre physiologique. LING a montré sur le muscle de grenouille que la chute du potentiel de repos d'une cellule se fait en deux étapes : la première correspond à une disparition de la phosphocréatine et de l'ATP, la seconde à celle des hexoses phosphates. Dans le premier stade, le potentiel du muscle, empoisonné à l'acide monoiodacétique, est en rapport direct avec le taux de phosphocréatine ; dans le second, le potentiel, mesuré après action de l'adrénaline, varie parallèlement à la concentration en hexose phosphate.

LING émit donc l'hypothèse que le protoplasme fonctionnait comme une sorte de résine capable de sélectionner le K^+ .

La phosphocréatine, l'ATP, les hexoses phosphates sont fortement fixés par les protéines. LING pense que ces corps sont capables d'ouvrir certains liens intramoléculaires, en faisant ainsi apparaître un certain nombre de pôles anioniques et en immobilisant la molécule protéique. Ainsi, un ion PO_4^{--} fait apparaître trois charges anioniques fixes.

Les composés phosphorés organiques maintiennent la molécule protéique dans une forme fixe permettant la sélectivité. Les protéines dont les charges anioniques ont été libérées et fixées peuvent fixer divers cations. L'ion K^+ , même hydraté, a un faible diamètre : il est fixé facilement. Pour à peu près la même charge, l'ion Na^+ sous forme hydratée, a un fort diamètre ; il sera donc fixé beaucoup moins énergiquement sur la molécule protéique et plus facilement mobilisable.

C) FAITS CONFIRMANT LA THÉORIE DE LING.

Les expériences montrant que le maintien du gradient de concentration du K^+ est lié à des complexes phosphorés, sont nombreuses et s'accordent avec la théorie de LING.

Si l'on bloque la respiration rénale par un cyanure, la suppression des oxydations va de pair avec celle de la

réabsorption des électrolytes. La contraction musculaire, l'hydrolyse du glycogène et des protéines d'un tissu s'accompagnent de décharge de K^+ , (FENN [22]).

Dans le tissu du cortex cérébral, DIXON [18] a observé que la rétention du K^+ par les tissus n'était possible qu'en présence de glucose. En l'absence de glucose ou après inhibition de la glycolyse par le fluorure, le K^+ quitte la cellule. L'on sait que l'activité des fibres nerveuses est liée à une extrusion de K^+ et à une intrusion de Na^+ .

Ces faits sont confirmés par KREBS [39] observant que l'addition de L-glutamate, le seul amino-acide oxydable par le cerveau, est nécessaire à la rétention de K^+ par les tissus.

Le glucose, l' O_2 et le L-glutamate sont tous trois nécessaires pour que le K reste dans la cellule [40].

Dans le muscle et le foie, J. TRÉMOLIÈRES et coll. [76] observent une réduction proportionnelle des taux de K^+ et de P. minéral d'environ 25 % sous l'influence de la Cortisone.

MUDGE [58] [59] observe que l'accumulation de K^+ , dans les coupes de rein ayant perdu du K^+ dans une solution de NaCl, ne se fait qu'en aérobiose. Le cyanure, le 2-4 dinitrophénol, inhibant les phosphorylations, empêchent le captage du glucose. Sur des coupes de rein normal, l'échange du K^+ est complet en 60 minutes, en aérobiose. En anaérobiose, 45 % ne sont pas échangés.

Dans les mitochondries du foie, le K^+ diminue rapidement en anaérobiose et se maintient en aérobiose. Le blocage enzymatique global, réalisé par les ions Hg^{++} , empêche l'échange du K^+ .

D) LES ESPACES DIFFUSIBLES INTERPRÉTÉS D'APRÈS LA THÉORIE DE LING.

Nous soulignerons combien cette théorie modifie l'essence même des notions de compartiment corporel et de membrane.

Les mouvements hydroélectrolytiques étaient réglés par la loi d'isotonie. Elle était basée sur la libre et rapide

circulation de l'eau, l'hémiperméabilité des membranes empêchant la pénétration du Na. Associée à la loi de neutralité électrique de chaque compartiment, l'hémiperméabilité conditionnait les potentiels polyioniques de membrane et le potentiel de repos des cellules. La cellule était un osmomètre dont la membrane était le sac.

1°) *L'espace Sodium*. — Dans la théorie de LING, il ne s'agit plus de compartiments individualisés par les membranes qui les séparent, mais de territoires métaboliques caractérisés par les propriétés biochimiques et physiologiques des constituants qui s'y trouvent associés. Les membranes, résines sélectives comme le protoplasme lui-même, ne se distinguent plus guère de ce dernier.

L'espace Na devient celui qui n'est pas occupé par les complexes protéines — dérivés phosphorés — potassium : espace de simple diffusion où des réactions organiques ne viennent pas modifier perpétuellement la taille et la nature des agrégats moléculaires. L'espace Na devient l'espace extra-métabolique, ou du moins celui qui échappe aux processus organiques complexant le K^+ . Les membranes et leur hémiperméabilité sont conçus comme les frontières de ces compartiments métaboliques.

2°) *La cellule*. — La cellule n'est plus une entité. Ses éléments fonctionnels élémentaires, mitochondries, noyaux, etc... peuvent se comporter différemment. C'est l'unité biochimique et fonctionnelle qui définit un compartiment métabolique.

Gagnant en précision biochimique et physiologique, le concept actuel de compartiment métabolique perd en précision anatomique. L'espace Na échangeable se situe pour 1/4 environ dans les cellules. Les mitochondries des tubules rénaux en aérobiose puisent leur K^+ dans le milieu intérieur et l'échangent contre du Na^+ dans le tubule rénal. C'est la cinétique même des mouvements du Na^+ par rapport au K^+ qui caractérise leurs fonctions.

La loi d'isotonie devient une grossière approximation à l'échelon statistique, car d'une part, les constantes de

dissociation des complexes liant les électrolytes peuvent varier constamment suivant l'état métabolique de la cellule, et, d'autre part, le pouvoir dissolvant de l'eau varie suivant les protéines et les électrolytes présents.

En conclusion, la théorie de LING, basée sur de nombreux faits physiologiques, explique la répartition sélective de certains ions à l'intérieur des cellules, par la formation de complexes généralement du type : protéines — dérivés phosphorés — Potassium.

Cette théorie permet de dépasser : 1°) les schématisations de compartiments extra et intracellulaires qui considèrent la membrane comme une barrière perméable à l'eau et à certains ions et imperméable à d'autres. Les mesures d'espaces donnent des résultats variables et peu interprétables dans les états pathologiques ; en effet de nombreux facteurs sont en cause tels que le choix de la substance, le moment de la mesure ; 2°) les mesures de capitaux totaux échangeables sont plus fidèles, mais elles éliminent la cinétique du phénomène. Elles sont physiologiquement peu intéressantes car elles se situent au moment de l'équilibre et ne peuvent évaluer les modalités cinétiques de l'incorporation du K^+ dans les complexes protéiques, dont nous avons souligné l'importance.

CHAPITRE II.

PRINCIPES DE NOTRE MÉTHODE ET CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

Nous avons donc choisi d'étudier la vitesse de diffusion du Potassium par rapport à celle du Sodium. Ces deux ions nous paraissant les plus intéressants.

S'il est possible que le Sodium intervienne dans la constitution de certains complexes organiques, en particulier au niveau des mitochondries du rein, on peut de façon schématique considérer que la vitesse de diffusion du Sodium correspond globalement à des lois physiques.

Les théories actuelles dérivant de celle de LING admettent que le Potassium intervient activement dans la constitution de nombreux complexes : protéines-dérivés phosphorés-potassium qui le protègent en grande partie contre les lois physiques de diffusion et expliquent le maintien de sa concentration cellulaire.

La vitesse de diffusion du Potassium correspondrait à son intégration dans des complexes organiques ayant des vitesses de renouvellement variables. Le ralentissement de la vitesse de diffusion du K, lié à son intégration dans les complexes organiques des membranes et du protoplasme, serait ainsi proportionnel au gradient de concentration, cellules-espaces extracellulaires que les tissus maintiennent.

En comparant la cinétique de la diffusion du Potassium par rapport au Sodium nous pouvons dépasser les schématisations des espaces extra et intracellulaires limités par des membranes, que l'on mesure arbitrairement

en des temps courts et déterminés ; nous pouvons ainsi animer la notion d'ion échangeable jusqu'ici mesurée au moment de l'équilibre et peu susceptible de variations significatives. Nous évaluons aussi les facteurs qui différencient métaboliquement le Sodium du Potassium, c'est-à-dire l'incorporation dans les complexes organiques mis en évidence par LING.

A) Le principe de notre méthode est donc d'étudier, après injection intraveineuse, la diffusion du Na et du K en dosant ces derniers dans le plasma.

Dans une exploration dynamique telle que nous la voulions il est certain que les concentrations plasmatiques du Na ou du K, après surcharge, n'apportent que de faibles variations dont l'intérêt est limité. En outre pour avoir des modifications sensibles, il faut des surcharges importantes, peu physiologiques.

La méthode de mesure la plus intéressante utilise les radioéléments ; ainsi, après une injection intraveineuse de radio K et de radio Na nous pouvons déterminer dans le plasma leur activité spécifique exprimée en coups par minutes par mEq (radioactivité par ml divisée par la concentration de l'ion en mEq par ml).

Cette activité spécifique du Na^+ ou du K^+ diminue dans le plasma au fur et à mesure que le radioélément s'échange avec la masse des ions non radioactifs. En se plaçant au moment de l'équilibre, vers 24 h, on détermine le capital échangeable de Na ou de K. Nous voulions étudier surtout le moment où, les ions ayant diffusé dans le liquide extracellulaire, leurs variations plasmatiques correspondent aux phénomènes de rentrée cellulaire et à l'incorporation dans des complexes organiques. FAUVERT [21] a vu que dès 30 minutes-1 heure après l'injection, le radioélément Na a déjà atteint un certain équilibre dans l'espace extracellulaire. Nous avons choisi de faire des mesures à 30 minutes, 1 h, 2 h, 3 h, et une dernière mesure vers 20 h qui puisse recouper les mesures

d'espace total échangeable. Donc la quantité de Na^+ et de K^+ injectée étant connue, nous dosons la quantité échangée de chaque ion radioactif à ces 5 temps successifs.

$$\text{Quantité échangée} = \frac{\text{Radioactivité injectée} - \text{Radioactivité excrétée}}{\text{Activité spécifique}}$$

La quantité échangée est inversement proportionnelle à l'activité spécifique ; elle tient compte des quantités injectées et excrétées de chaque ion.

B) Les divers cas étudiés.

Nous avons d'abord testé notre méthode chez des sujets normaux du point de vue équilibre hydro-minéral. Puis, nous appuyant sur des travaux antérieurs nous l'avons appliquée à des cas pathologiques.

TREMOLIERES et coll. [76] avaient montré que la Cortisone augmentait considérablement le taux des dérivés phosphorés riches en énergie et diminuait celui des phosphates minéraux et du Potassium dans la cellule, la sur-rénalectomie produisant l'effet inverse.

STOLKOWSKI et coll. avaient montré sur divers tissus le ralentissement de la pénétration du ^{42}K par la Cortisone [72].

Nous avons donc tenté ensuite d'étudier des Addisoniens puis des sujets recevant de la Cortisone et de la Delta-1-déhydrocortisone depuis moins de 10 jours. La Cortisone a été administrée à la dose de 300 mg par 24 heures par voie intramusculaire. La delta-Cortisone a été donnée à la dose de 70 mg par 24 heures par voie buccale.

Quand les patients reçoivent les dérivés cortisoniques depuis plus de 10 jours, il se produit une auto-régulation et les variations par rapport aux normaux sont bien moins nettes.

Nous avons aussi recherché chez le cirrhotique si l'on observait le même trouble cellulaire.

C) Les modalités opératoires.

Les malades ne sont pas laissés à jeun, en raison de la durée de l'épreuve. Si les radioéléments étaient administrés par voie buccale, les aliments pourraient perturber l'absorption ; la voie veineuse nous met à l'abri de cette cause d'erreur.

Le produit radioactif est injecté dans une perfusion de solution glucosée à 50 % pour éviter tout risque d'irritation veineuse locale. Cette perfusion est laissée le temps minimum, environ 5 minutes, de manière à ce qu'un excès d'eau ou de glucose ne perturbe pas nos résultats. On sait que le Potassium joue un rôle dans la métabolisation du glucose.

Pour l'injection qu'il faut effectuer avec le maximum de précision, nous préférons à la seringue étanche tarée l'emploi d'une fiole jaugée qui reçoit le liquide contenant Na^+ et K^+ . Nous prélevons ensuite la totalité de ce liquide dans une seringue étanche de grande capacité et y ajoutons les liquides obtenus par deux lavages de la fiole avec de l'eau physiologique. Nous rinçons notre seringue en reprenant un peu de liquide dans le tube de perfusion.

La radioactivité injectée s'élève à 80 μc pour le Na^+ et 250 μc pour le K^+ . Nous sommes obligés d'injecter un K^+ nettement plus radioactif que le Na^+ . De cette façon, étant donné que le plasma contient environ 30 fois plus de mEq de Sodium que de Potassium, il est possible de trouver, pour chacun des deux ions, une radioactivité du même ordre.

Ces doses de radioactivité sont celles qu'utilisent les auteurs américains pour les mesures d'espace échangeable à 24 h. Elles se situent dans les limites permises à condition de ne pas être répétées avant un intervalle de deux semaines [60]. L'urine du malade est recueillie juste avant l'injection, puis lors de chaque prélèvement sanguin 30 minutes, 1 h, 2 h, 3 h et 20 heures après la perfusion ; la radioactivité excrétée peut ainsi être déterminée. Le sang est recueilli sur une quantité minime

d'héparine et centrifugé immédiatement pour éviter tout échange plasma-globules. Cet échange perturberait grandement les mesures du K^+ , à cause de la grande masse potassique cellulaire et surtout de la faible échangeabilité de ce K^+ , qui a donc une activité spécifique très inférieure à celle du plasma.

D) **Le problème technique** qui se posait alors était de séparer le radio K du radio Na pour pouvoir déterminer la quantité échangée de chaque ion.

Pour déterminer la quantité de Na^+ et de K^+ échangée à chaque temps, il faut séparer complètement la totalité du Sodium ($^{24}Na^*$ et ^{23}Na), de la totalité du Potassium (^{39}K et $^{42}K^*$). De plus, il est très important de conserver l'activité spécifique des deux ions, c'est-à-dire le rapport du nombre des ions radioactifs à celui des ions ordinaires. Il ne faut ni enrichir en ion radioactif, ni diminuer l'activité spécifique en diluant avec ^{23}Na ou ^{39}K .

Les critères demandés à cette séparation sont donc :

1°) une grande pureté : pas de contamination Na — K (mais le rendement n'a pas besoin d'être total) ;

2°) pas de dilution avec du Na ou du K extérieur (qui diminueraient l'activité spécifique) ;

3°) une durée opératoire de l'ordre de la demi-journée car la radioactivité du K baisse de moitié en 12 heures, celle du Na en 15 heures ;

4°) l'augmentation des concentrations en ions ou du moins le maintien de leur taux, tout en maintenant évidemment leur activité spécifique. Ceci permet de diminuer la radioactivité injectée ou d'opérer plus tardivement.

Pour respecter l'intégrité de ces critères, nous avons essayé tout d'abord de séparer le Sodium du Potassium en utilisant les propriétés physiques dues à leur radioactivité. Puis nous avons étudié diverses techniques chimiques par précipitation. Enfin, nous avons mis au point une technique de chromatographie par échange d'ion.

CHAPITRE III.

SÉPARATION PHYSIQUE DU RADIO SODIUM ET DU RADIO POTASSIUM.

Les propriétés des radioisotopes, telles que leur période, et les caractéristiques énergétiques de leurs rayonnements β ou γ , sont en général assez diverses pour permettre des mesures par différence. La séparation est possible, soit en attendant qu'un des isotopes soit désintégré, soit en mesurant le rayonnement émis par un seul des deux corps.

A) **La différence des périodes** de ces deux radioéléments ne permet pas d'évaluer séparément leurs radioactivités respectives. Les éléments actuellement fournis par le Commissariat à l'Energie Atomique sont :

$^{24}_{11}\text{Na}$ = Période (*) 15,06 heures

$^{42}_{19}\text{K}$ = Période 12,4 heures

On voit qu'il existe une différence de durée de vie, mais elle est trop peu importante pour permettre deux mesures dont l'une aurait donné la radioactivité totale et l'autre, plus tardive, la radioactivité de l'élément à vie longue.

Il existe bien un ^{22}Na dont la période est de 2,6 ans. THREEFOOT l'a utilisé chez l'homme [74] mais sa durée de vie rend son utilisation délicate. Son prix de revient est élevé et il n'est pas fabriqué en France actuellement. Il est préparé en Angleterre par bombardement de magnésium dans un cyclotron, selon la réaction $^{24}\text{Mg} (d, \alpha) ^{22}\text{Na}$.

(*) Temps au bout duquel la moitié d'une quantité donnée du radioisotope est désintégrée.

La capture de deutérium ${}^2_1\text{H}$ s'accompagne de l'émission de particules α (${}^4_2\text{He}$) tandis que le nombre de masse (*) diminue de 2 le nombre atomique (**) de 1.

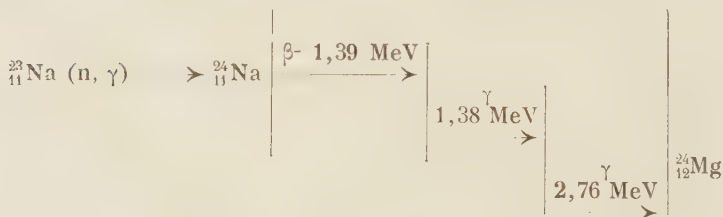


Gabriel BERTRAND a étudié la répartition dans l'organisme du Rubidium naturel [5] ; LOVE et TYOR celle de son isotope radioactif [46, 77] ; elle suit assez fidèlement la répartition du K, aussi le ${}^{86}\text{Rb}$ a été proposé comme traceur de K. Sa période de 19,5 jours, si elle permet une différenciation facile du ${}^{24}\text{Na}$, augmente aussi l'irradiation et ses dangers pour l'utilisation humaine. Nous n'avons pas utilisé le Rubidium car il est peu abondant naturellement (2 à 5 mg par litre de sang) et ne peut quand même pas être assimilé complètement au K. De plus le ${}^{86}\text{Rb}$ est souvent souillé de Césium.

B) Les rayonnements du ${}^{24}\text{Na}$ et du ${}^{42}\text{K}$ présentent des différences notables.

1°) LEUR PRÉPARATION, nettement plus simple que celle du ${}^{22}\text{Na}$, se fait généralement dans la pile à uranium, par capture d'un neutron et émission d'un photon (n, γ). Le nombre atomique est conservé, la masse augmentant d'une unité.

a) Le ${}^{24}\text{Na}$ est préparé selon le schéma suivant :



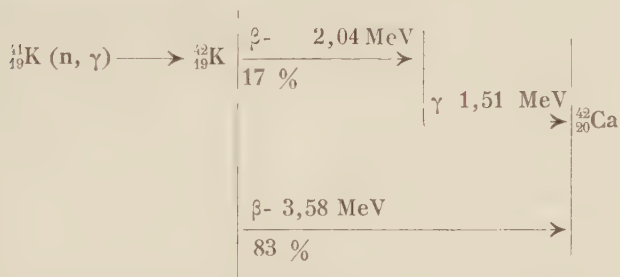
(*) Le nombre de masse A est le total neutrons + protons du noyau de l'atome.

(**) Le nombre atomique Z est le nombre des électrons de l'atome dont il conditionne les propriétés chimiques et permet la classification selon MENDELEIEFF.

Le ^{23}Na , constituant la totalité du Sodium naturel et sa section efficace étant de 0,6 barns (*) on obtient facilement des activités spécifiques importantes (35 millicuries par gramme pour une irradiation de 36 heures).

Le ^{24}Na émet un rayonnement β de 1,39 MeV et deux rayonnements γ de 1,38 MeV et 2,76 MeV.

b) Le ^{42}K est préparé selon le même principe à partir du ^{41}K qui se trouve dans le K naturel à raison de 6,62 %, avec deux autres isotopes : ^{39}K , isotope stable et le plus abondant : 93,36 % et ^{40}K , isotope naturel radioactif à l'état de traces 0,012 %. Ce dernier a une période de 109 ans, et il émet des rayonnements β et γ pénétrants (1,35 et 1,5 MeV). Notons que les isotopes radioactifs naturels sont très rares pour les éléments de faible poids atomique. Par ailleurs ^{40}K fournit à l'organisme humain une partie importante de sa radioactivité naturelle. Son taux est trop faible cependant pour perturber les expériences faites avec ^{42}K .



Les activités spécifiques du ^{42}K que l'on peut obtenir sont nettement plus faibles que celles du ^{24}Na (2,4 mc par gramme pour une irradiation de 36 heures). En effet, le K naturel contient peu de ^{41}K et sa section efficace est de 0,068 barns, soit 10 fois moins que celle du Na. C'est aussi pour cette raison que le ^{42}K est facilement souillé

(*) 10^{-24} cm^2 = la section efficace déterminée, avec le flux de neutrons de la pile, la durée de l'irradiation, la masse de l'élément irradié et la période de l'isotope formé, l'activité spécifique de ce dernier.

de ^{24}Na car les traces de Na^+ que peut contenir le K^+ s'irradient 10 fois plus. Avec une souillure de 0,01 % de Sodium dans ce Potassium, après irradiation, 0,1 % environ de la radioactivité totale sera due au Sodium.

Comme le montrent les tableaux de désintégration, le ^{24}Na et le ^{42}K ont des rayonnements assez différents : le K a des rayonnements β très pénétrants, le Na ayant plus de rayonnements γ .

2°) On peut essayer de séparer les deux radioactivités en utilisant les rayonnements β .

Les particules β sont des électrons rapides dont la masse est négligeable, notamment par rapport aux particules α , mais qui sont chargés d'une unité électrostatique, le plus souvent négative ce qui est le cas du ^{24}Na et du ^{42}K .

L'électron est libéré du noyau à partir d'un neutron qui se transforme en proton. La masse du noyau ne change pas, mais sa charge électrique augmente de 1.

L'atome restant électriquement neutre, un électron provenant de l'ionisation du milieu ambiant se fixe sur la couche périphérique. Le nombre atomique Z augmente de 1 : ainsi $\text{Na} \longrightarrow \text{Mg}$ et $\text{K} \longrightarrow \text{Ca}$.

Les particules β sont mesurées facilement d'après leurs propriétés ionisantes, au compteur de Geiger-Muller.

Leur vitesse, avoisinant celle de la lumière, permet une pénétration assez importante dans les corps solides et détermine l'énergie du rayonnement. Le ^{24}Na émet un rayonnement β de 1,39 MeV (millions d'électrons-volt) le ^{42}K deux de 2,04 MeV et 3,58 MeV.

On peut, avec des épaisseurs variables d'aluminium, arrêter tout ou partie des rayonnements les moins énergiques. Ainsi un écran d'aluminium de 360 mg par cm^2 (soit 1,3 mm d'épaisseur) élimine environ 90 % des radiations du Na. Mais il faut compter sur les rayonnements gamma associés qui, s'ils sont captés moins facilement par le compteur Geiger-Muller, traversent presque totalement une telle épaisseur d'aluminium. La distance de

la source au compteur et la géométrie de l'enceinte influent aussi par des phénomènes de réflexion. Aussi faut-il calculer expérimentalement, avec un appareillage déterminé, le pourcentage de radiations du Na et du K qui sont arrêtées par un filtre d'aluminium.

Nous avons utilisé un filtre de 160 mg par cm^2 (0,6 mm d'épaisseur) qui arrête 80 % des radiations totales du Na et 40 % de celles du K.

Une mesure sans écran donne $S = \text{Na} + \text{K}$.

Une mesure avec écran donne $s = 0,2 \text{ Na} + 0,6 \text{ K}$.

Il suffit de résoudre les équations pour avoir Na et K. Cette mesure est peu précise, surtout quand les quantités de Na et de K sont assez différentes. Nous n'avons pu l'utiliser dans le cas du sérum mais elle nous a servi à calculer dans les urines la radioactivité excrétée qui ne représente que 0,1 % de la quantité injectée.

3°) LES RAYONNEMENTS GAMMA, ou photons, sont des radiations électromagnétiques de masse infiniment petite et sans charge électrique. Les photons ne sont jamais émis seuls. Les rayonnements gamma accompagnent toujours une radiation β ou α et dépendent de l'état d'excitation dans lequel se trouve le noyau lors de l'émission d'une particule électriquement chargée. L'émission gamma n'entraîne de modification ni de la masse ni du numéro atomique de l'élément. Les rayonnements gamma ont une longueur d'onde très faible, de l'ordre de 0,01 Å, qui explique leur grande pénétration dans les solides. Il est difficile de séparer le rayonnement gamma du K^+ (son énergie est de 1,51 MeV) des rayonnements gamma du Na^+ (leurs énergies de 1,38 MeV et de 2,76 MeV sont trop proches).

Pour la mesure, on utilise de préférence un compteur à scintillation. Le rayonnement est capté par un cristal, généralement d'iodure de Sodium activé au thallium. Celui-ci émet des photons qui sont transformés en courant électrique proportionnel en définitive à l'ionisation initiale.

Les écrans ne sont pas utilisables pour séparer les rayonnements de différentes énergies. La séparation est possible ne faisant varier,

- 1) le voltage du photomultiplicateur,
- 2) la sensibilité de l'amplificateur,
- 3) la sensibilité de l'échelle.

Nous avons pu utiliser un compteur à scintillation avec séparateur d'amplitudes Mesco. En appliquant au séparateur des voltages croissants nous avons tracé la courbe : nombre de coups par minute — voltage du discriminateur. Pour le Na nous trouvons deux clochers à 30 v — 32 v et à 38 — 44 V (maximum à 42 V).

TABLEAU I.

Radioactivité du Sodium ²⁴ et du Potassium ⁴², mesurée au compteur à scintillation avec séparateur.

Sodium (Amplitude 900) (Voltage 1800 V)		Potassium (Amplitude 1000) (Voltage 1800 V)	
Radioactivité en c.p.m.	Voltage du séparateur	Radioactivité en c.p.m.	Voltage du séparateur
16.800	24	3.800	25
10.900	26	3.500	30
9.300	28	3.200	34
15.800	30	3.100	36
17.700	32	2.900	37
7.300	34	2.980	38
		3.050	39
4.800	36	2.900	40
5.500	38	2.850	41
7.400	40		
11.300	42		
6.500	44		
5.700	46		
5.000	48		

Pour le K nous ne trouvons qu'un palier à 39 volts. Nous sommes gênés par les rayonnements β qui sont assez pénétrants.

En prenant une bande de 3 volts de largeur, on peut conserver la radioactivité d'un seul rayonnement, mais le rendement est mauvais car on élimine plus de 80 % de la radioactivité comptée dans un scintillateur ordinaire. De plus, il est difficile de séparer des rayonnements aussi proches que 1,38 et 1,51 MeV.

En utilisant un cristal à anthracène, qui capte les rayons β , la séparation avec un scintillateur serait plus facile (1,39 MeV pour Na et 2,04 et 3,58 MeV pour K). Mais on est gêné alors par les rayonnements gamma.

4°) MESURES UTILISANT DEUX COMPTEURS.

La solution, dans l'état actuel, semble être de combiner les mesures avec deux compteurs, l'un captant surtout les rayonnements β , c'est-à-dire le ^{42}K (compteur de Geiger-Muller, appareil à scintillation avec cristal à anthracène), l'autre les rayonnements gamma, soit le ^{24}Na (scintillateur avec cristal d'iodure de Sodium).

Ce principe a été appliqué par ROBINSON et coll [65] en utilisant des dispositifs de mesure de liquide, ce qui augmente le rendement. Avec leurs appareils, ils captent 10 fois plus de radiations de ^{42}K au compteur de Geiger qu'au scintillateur. Le Sodium marque 1,8 fois plus au scintillateur qu'au compteur Geiger. Il suffit de résoudre deux équations à 2 inconnues pour avoir les radioactivités du Na et du K. Comme on ne peut faire de calcul de décroissance sur un mélange de radioactivités Na et K, les mesures aux 2 compteurs doivent être effectuées au même temps, à 5 minutes près.

Des mesures plus spécifiques mais d'un moins bon rendement pourraient être obtenues avec des radioactivités supérieures, ce qui n'est possible que chez l'animal. Il faudrait utiliser un compteur à scintillation avec spectromètre, qui ne compterait que le rayonnement gamma de 2,76 MeV du Na^+ . Le Potassium serait séparé presque totalement avec un compteur de Geiger auquel on intercalerait un écran qui supprime la presque totalité des

rayons β du Na^+ de 1,39 MeV. Pour le K^+ on pourrait encore utiliser un scintillateur à cristal d'anthracène qui ne conserverait que la plus forte radiation β : celle de 3,58 MeV qui constitue 75 % du rayonnement de ^{42}K .

Ces mesures exigent des appareils délicats qui n'apportent qu'une précision relative car on est obligé de faire des mesures par différence. Dans le cas d'une séparation totale le rendement obtenu est mauvais.

En résumé.

Les périodes des radioéléments usuels étant trop proches, la seule séparation physique possible est basée sur les différences des radiations des isotopes.

Nous séparons les radiations β par un écran d'aluminium. La méthode, peu précise, peut cependant être utilisée pour mesurer la radioactivité excrétée. Les radiations γ peuvent être séparées à l'aide de divers compteurs, mais le rendement est mauvais, ce qui diminue la précision. Les mesures utilisant deux compteurs, de type β et γ ne sont aussi que d'une précision relative.

CHAPITRE IV.

SÉPARATION PAR PRÉCIPITATION CHIMIQUE.

Nous avons essayé de séparer le Na^+ du K^+ en précipitant chimiquement l'un des deux. Pour pouvoir déterminer dans le précipité, comme dans le surnageant, la concentration de chaque ion, il faut surtout éviter d'apporter aucune souillure de Na^+ ou de K^+ . Le rendement n'a pas besoin d'être excellent, il faut seulement vérifier que l'activité spécifique n'a pas varié au cours de la séparation. La méthode doit être rapide car la période des radioéléments oblige à effectuer les mesures de radioactivité dans la journée.

1) Précipitation du Sodium. Dosage du Potassium dans le surnageant.

a) Les méthodes de précipitation du Na en acétates triples insolubles sont les plus utilisées.

A la suite de BLANCHETIERE [7], KAHANE [34] et PACU [62] utilisent le sel de magnésium,

$3 \text{ U O}_2 (\text{CH}_3\text{COO})_2$, $\text{Mg} (\text{CH}_3\text{COO})_2$, $\text{Na CH}_3\text{COO}$, $8 \text{ H}_2\text{O}$ qu'ils lavent à l'alcool à 96° avant de le peser. D'autres auteurs utilisent l'acétate triple d'uranyle de zinc et de Sodium dont la formule est similaire mais ne compte que $6 \text{ H}_2\text{O}$ de cristallisation.

MACCANCE termine le dosage par colorimétrie d'un ferrocyanure d'uranyle [47] ; GOLDZIEHER, par la formation d'un complexe coloré uranyle-perhydrol en milieu alcalin [27] ; KATHEN et LANG [36] titrent par la soude le précipité, dissous dans l'eau.

Dans ces méthodes de formation de complexes, il faut tenir compte du fait que, souvent, il se produit aussi un acétate double d'uranyle et de sodium.

En ce qui nous concerne, le plus grave inconvénient de ces méthodes est l'apport de la radioactivité de l'uranium qui exige une mesure supplémentaire au compteur, et surtout oblige à une soustraction de cette radioactivité. Ceci diminue considérablement la précision des mesures car celles-ci ne sont pas du même ordre de grandeur.

b) Nous avons essayé d'utiliser la précipitation du Sodium à l'état de pyro-antimoniate selon ROURKE [66].

Le sérum dilué au cinquième dans l'eau distillée est additionné de 5 volumes de pyroantimoniate de K à 1 %. La précipitation se fait par addition de 1,5 volume d'alcool à 96°, suivie d'un repos d'une heure. Après un lavage avec 5 volumes d'alcool à 30°, on recueille le précipité qui est dissous dans H Cl concentré. Le dosage se termine par iodométrie ou par photométrie de flamme. Avec les 10 ml de plasma qui nous sont nécessaires pour avoir une radioactivité suffisante, nous utilisons finalement des volumes de 250 ml qui sont peu maniables. Le pyro-antimoniate de K contient presque toujours du Na. Une partie est éliminée dans la préparation du réactif par décantation avant l'emploi. Nous avons quand même retrouvé de 0,1 à 0,2 mEq % de Sodium ce qui diminue notablement l'activité spécifique du précipité. L'usage d'un sel de K comme réactif précipitant nous empêche d'utiliser le surnageant et les eaux de lavage pour déterminer l'activité spécifique du K^+ .

c) MESURE DU POTASSIUM PAR DIFFÉRENCE. Au lieu de mesurer séparément la radioactivité du K^+ dans le surnageant, nous avons pensé faire une mesure de la radioactivité totale et en déduire la radioactivité du Na^+ pour avoir celle du K^+ . En effet, dans le sérum, il y a trop de Na^+ par rapport au K^+ pour obtenir facilement des produits très purifiés, et le K^+ risque toujours d'être souillé.

Ce procédé permettrait d'utiliser la précipitation en pyroantimoniate de Na, dans laquelle le surnageant n'est pas utilisable pour la mesure du K radioactif à cause du sel de K qui a été ajouté. Mais les comptages de radioactivité ne sont valables que statistiquement et des mesures par différence feraient intervenir une erreur par trop importante. Dans le cas des sels triples, l'erreur serait plus importante, puisque des mesures de radioactivité du Sodium, il faudrait encore déduire celle de l'uranium.

2) Précipitation du Potassium. Mesure de la radioactivité du Sodium par différence.

a) PRÉCIPITATION EN COBALTINITRITE.

La précipitation de LEULIER, VELLUZ et GRIFFON [41] revue par LEULIER et BERNARD [42] est très utilisée. Le précipité de cobaltinitrite sodicopotassique est formé en milieu acétique et lavé à l'alcool-éther. On termine en général, après élimination du Cobalt à l'état de phosphate, en dosant les nitrites par manganimétrie. Mais il se forme un mélange variable de $K_2Na [Co (NO_2)_6]$ et de $KNa_2 [Co (NO_2)_6]$. L'utilisation d'un sel de Sodium ne permet pas de se servir du surnageant pour mesurer l'activité spécifique du Sodium.

b) DOUBLE PRÉCIPITATION.

Récemment, JAMES et coll. [32] ont proposé une méthode par double précipitation, pour la mesure simultanée du Na échangeable et du K échangeable : 15 ml de sérum sont précipités, par le cobaltinitrite de Sodium en milieu acétique tamponné à pH 5,7, au bain de glace. Le lavage est pratiqué avec la solution tampon puis avec de l'alcool à 80°. Le précipité chauffé jusqu'à fusion du nitrite de Sodium, est repris par l'eau puis transformé en tartrate, insoluble en milieu alcoolique. Après plusieurs lavages à l'alcool le tartrate est dissous dans l'eau. Cette solution est utilisée pour le dosage du K^+ et la mesure de

la radioactivité. Le potassium est concentré de 5 à 10 fois avec un rendement de 75 à 85 %.

— La radioactivité totale (Na et K) est mesurée au compteur de Geiger, directement dans le sérum séché. Il faut appliquer une correction de 3 % aux coups par minute du ^{24}Na dont les rayonnements β sont en partie absorbés par la pellicule de protéine.

— La radioactivité du K du sérum est calculée d'après l'activité spécifique du précipité de tartrate de Potassium.

— La radioactivité du Na est évaluée par différence.

Les auteurs indiquent une précision de ± 4 % par rapport aux expériences faites avec Na seul ou K seul, mais on voit, d'après la marche de l'expérience, toutes les erreurs possibles, dues notamment, aux facteurs de correction et aux mesures par différence.

3) Précipitation du Potassium. Mesure de la radioactivité du Sodium dans le surnageant.

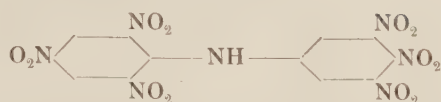
Cette méthode évite les mesures par différence.

a) L'ACIDE PERCHLORIQUE possède un sel de potassium peu soluble (0,15 %) rendant possible une précipitation.

En vérifiant $\text{Cl O}_4\text{H}$, nous avons vu que les produits Prolabo ou Merck contenaient de 0,30 à 0,20 mEq % de Sodium, ce qui entache d'erreur la mesure de l'activité spécifique du Sodium dans le surnageant. La seule solution serait de distiller sur silice, mais cette opération est fort délicate.

De plus, il est difficile, avec des solutions perchloriques, de terminer le dosage au photomètre de flamme. Ceci pas tellement du fait des risques d'explosion, qui sont fort minimes, que du fait d'une lecture des plus délicates en raison de l'instabilité de la flamme et de la sensibilité diminuée par l'ion Cl O_4^- .

b) LA DIPICRYLAMINE (D.P.A.)



a été utilisée notamment par COLIN [14] pour doser le Potassium sérique. Elle donne un sel de K très peu soluble dans l'eau à 0° et soluble dans l'acétone. Sa coloration jaune orangée permet un dosage photométrique.

— A 0,4 ml de plasma dans une capsule de platine, ajouter 3 gouttes de mélange sulfonitrique. Après carbonisation au bain-marie, minéraliser au bain d'air puis à la flamme.

— Les cendres sont reprises par 0,6 ml d'eau distillée dont on mesure 0,3 ml dans un tube à centrifuger. Refroidir 10 minutes à 0°, le tube et les réactifs ; filtrer ces derniers.

— Au 0,3 ml ajouter 0,2 ml de Dipicrylaminat de Sodium (D.P.A. Na) ; mélanger en frottant les parois jusqu'à précipitation, laisser 15 minutes dans l'eau glacée.

— Centrifuger 2 minutes à grande vitesse. Eliminer le surnageant au Siphon d'Ambard. Laver par centrifugation avec 1 ml d'eau glacée saturée de dipicrylaminat de Potassium (D.P.A.K.).

— Le précipité est dissous dans 2 ml d'acétone puis dilué avec de l'eau. La lecture photométrique se fait vers 4.300 Å.

— On compare à une gamme étalon établie avec des quantités croissantes de K⁺ traitées dans les mêmes conditions.

1) — *Etude de la précipitation.*

Nous ne pouvions utiliser le D.P.A. Na si nous voulions utiliser le surnageant pour le dosage du Sodium. A la suite de LEWIS [44] nous avons utilisé le sel de Lithium (DPA Li).

A 1 g de DPA, Merck, versé dans 100 ml d'eau distillée à 70° nous ajoutons peu à peu 0,300 g de Carbonate de Lithium. Agiter soigneusement. Laisser reposer 24 h. Placer 12 h à 3° et filtrer.

Nous avons, d'abord, étudié les meilleures conditions de précipitation du DPA Li avec une solution de chlorures de Na et de K, aux concentrations sériques. La solution contenait 10 micro-équivalents de K⁺. Le tableau II indique les quantités de K, en microéquivalents, qui sont retrouvées dans le surnageant, donc non précipitées. La précipitation la plus complète se fait avec 2 ml de solution sérique minéralisée pour 3 ml de DPA Li. La précipitation est presque totale à 15 minutes et il y a fort peu de différence si l'on laisse 30 minutes à 0°. Nous avons donc choisi de laisser 20 minutes en contact, à 0°, 2 ml de solution sérique minéralisée avec 3 ml de réactif précipitant.

TABLEAU II.

Etude des conditions de précipitation du DPA K.

	Microéquivalents de K ⁺ (retrouvés dans le surnageant) après précipitation à 0 degré de 10 microéquivalents de K	
	Durant 15 minutes	Durant 30 minutes
Solution sérique minéralisée.....2 ml	0,4	0,4
DPA Li3 ml	0,43	0,36
Solution sérique.....2 ml	0,7	0,74
H ₂ O2 ml		
DPA Li3 ml	0,84	0,79
Solution sérique.....2 ml		
H ₂ O3 ml	1,08	0,95
DPA Li4 ml	1,13	0,9
Solution sérique.....2 ml	0,56	0,48
DPA Li4 ml	0,6	0,6

2) — *Etude du lavage* (tableau III).

Nous avons étudié les divers lavages possibles du précipité :

a) le lavage avec de l'eau glacée préconisé par LEWIS. Celui-ci utilisant le radio K, montre qu'en lavant, avec une solution saturée de DPAK, on peut apporter du K^+ et faire une erreur par excès.

TABLEAU III.

*Lavage du précipité de DPAK à l'eau glacée
et avec une solution saturée de DPAK ou de $DPANH_4$
Les quantités de K^+ et de Na^+ , dosées à chaque stade,
sont exprimées en mEq.*

		Extraction	1 ^{er} lavage 40 ml	2 ^e lavage 40 ml	Précipité	Total : quantités retrouvées (*)
Centrif. (3 expér.) ..	K	0,0008	0,004	0,001	0,005	0,0108
Lav. à l'eau	Na	(0,28)	(0,005)	(0,0005)	(0,002)	(0,2875)
Bag. filtr. (2 expér.) ..	K	0,0006	0,004	0,0016	0,004	0,0101
Lav. à l'eau	Na	(0,29)	(0,008)	(0,0003)	(0,0002)	(0,2985)
Centrif. (3 expér.) ..	K	0,0009	0,0012	0,0008	0,0074	0,0103
Lav. au DPAK	Na	(0,280)	(0,008)	(0,0006)	(0)	(0,2886)
Bag. filtr. (2 expér.) ..	K	0,0006	0,0016	0,0008	0,0078	0,0108
Lav. au DPAK	Na	(0,278)	(0,0012)	(0,0008)	(0)	(0,2908)
Bag. filtr. (5 expér.) ..	K	0,0009	0,0005	0,0003	0,0082	0,0099
Lav. au $DPA\ NH_4$..	Na	(0,285)	(0,006)	(0,0005)	(0)	(0,2915)

(*) des 0,01 mEq de K et 0,29 mEq de Na traités au départ.

b) le lavage au DPAK utilisé par COLIN,

c) le lavage au $DPANH_4$ que nous avons pensé être préférable : on évite ainsi d'entraîner du K^+ comme avec l'eau ou d'en rajouter comme avec le DPAK.

Nous avons dosé aussi le Na^+ dans le surnageant et les eaux de lavage, pour savoir si l'on pouvait déterminer, dans ces liquides, l'activité spécifique du Sodium.

Nos premiers lavages furent pratiqués dans un tube à centrifuger en opérant par décantation après centrifugations successives.

Pour avoir un meilleur rendement et récupérer le maximum de Sodium, nous avons utilisé ensuite une baguette filtrante, plongeant dans le bécher où la précipitation avait été effectuée. Le tableau 3 indique nos résultats :

— le lavage à l'eau entraîne à peu près la moitié du K précipité ;

— le lavage au DPAK en entraîne 22 à 24 %.

C'est pour cette raison que COLIN effectue son dosage par rapport à une courbe étalon de K⁺ précipité dans les mêmes conditions. Nous n'avons pas retrouvé dans ces conditions, une augmentation significative du K⁺ due au lavage au DPAK ;

— avec le DPA NH₄ nous avons de bons résultats puisque la perte n'est que de 18 %.

En conclusion, nous avons étudié la séparation du Potassium par la dipicrylamine. Grâce à la précipitation avec le sel de Lithium, le surnageant est utilisable pour doser l'activité spécifique du Sodium. Dans notre méthode de lavage, le DPA NH₄ donne des pertes moins importantes que l'eau et évite un échange du K⁺ radioactif avec le K⁺ ordinaire du DPAK généralement utilisé. Cependant la méthode est longue et délicate surtout au stade de la minéralisation car, pour avoir des quantités de radioactivité suffisantes, il faut opérer sur des volumes importants.

Les séparations chimiques par précipitation du Sodium en sels triples d'uranyle ou en pyroantimoniate ne sont pas utilisables pour la séparation des radioéléments.

Quand les techniques de précipitation du Potassium sont applicables aux radioisotopes, elles ne permettent pas d'obtenir une grande précision dans la séparation des deux ions.

CHAPITRE V.

SÉPARATION PAR CHROMATOGRAPHIE D'ÉCHANGE D'IONS.

Des résines comprenant des groupes électronégatifs, peuvent par des phénomènes d'échange, réglés par la constante apparente de dissociation des ions, fixer divers cations. Des phénomènes d'absorption se produisent aussi. En passant ensuite un acide dilué de force ionique supérieure, on élue les cations successivement suivant le diamètre de l'ion.

Diverses résines ont été utilisées qui sont du type sulfonique le radical actif étant SO_3H^- .

KAYAS [37] en 1949 utilisait l'amberlite IR 100 et éluait par $\text{Cl O}_4\text{H}$ (0,1 N) pour obtenir successivement le Na^+ puis le K^+ . COHN et KOHN [13] suivis de divers auteurs [6] [38] [73] [3] utilisent le Dowex 50 ou l'amberlite IR 100 en éluant par H Cl 0,15 à 0,70 N. Ils séparent successivement le Sodium, le Potassium, le Rubidium et le Césium, qui tous font partie de la classe I du système de MENDELEIEFF.

Nous avons étudié, d'abord la fixation des ions alcalins selon le type de résine et la nature du liquide à fixer, puis les modalités d'élution selon : la nature de l'acide, le choix de la résine, le débit de l'élution, le titre de l'acide et les dimensions de la colonne de chromatographie.

1) Etude de la fixation des ions alcalins.

a) CHOIX DE LA RÉSINE.

3 à 4 g de diverses résines sulfoniques sont introduits dans des ampoules à décantation, de 1,2 cm à 1,7 cm de

diamètre dans leur partie cylindrique. Avant la résine nous plaçons un flocon de coton de verre puis, l'ampoule étant remplie d'eau distillée, nous versons une suspension de chaque résine. Nous laissons reposer et plaçons un autre flocon de coton de verre au sommet de la résine. La résine est régénérée par $\text{HCl } 3 \text{ N}$ jusqu'à ce que le liquide effluent ne contienne plus de Sodium : en général 60 à 100 ml suffisent. Nous lavons alors à l'eau distillée par fractions de 20 ml jusqu'à neutralité de l'effluent. Les résines sont alors prêtes à l'emploi. Nous étudions la fixation avec une solution de chlorures contenant par litre 145 mEq de Sodium et 5 mEq de Potassium. Pour ceci nous versons sur la colonne 10 ml de cette solution et nous laissons couler à un débit voisin de 1 ml par minute. Nous lavons avec 10 ml d'eau distillée et recueillons ces liquides que nous dosons au photomètre à flamme.

Avec la résine G40 P nous retrouvons dans les liquides passés à travers la colonne 0,5 mEq pour mille de Na^+ et 0,05 mEq pour mille de K^+ . Ceci ne représente que 1 pour 300 à 1 pour 100 de la quantité initiale mais la fixation n'est cependant pas complète. Au contraire avec G50 P — IR 120 et Dowex 50 nous retrouvons moins de 0,05 mEq pour mille de Na^+ et moins de 0,005 mEq pour mille de K^+ , c'est-à-dire moins de 1 pour 1500 du Na^+ initial et moins de 1 pour 500 du K^+ initial.

b) FORME D'UTILISATION DU LIQUIDE A FIXER.

Le *plasma* peut être versé directement sur la résine. Mais si on élue immédiatement après, les premiers liquides sont souvent troubles par précipitation des protéines au point isoélectrique. Cette précipitation peut se produire aussi au milieu de la résine ; le débit devient alors très lent, aux environs de 0,3 ml par minute. Il est donc très important de laver à l'eau distillée avant l'élution. Le plasma déplace d'abord, l'eau contenue dans la colonne, puis il apparaît au bas de celle-ci. Il a le même aspect qu'avant la fixation : (les protéines ne sont pas

dénaturées) mais il ne contient plus que des traces de Na et de K.

L'eau distillée que l'on ajoute alors entraîne le plasma resté dans la colonne. Le volume d'eau, en général de 10 à 20 ml, peut être plus important à condition que l'eau soit neutre. Dans une expérience, par suite d'une erreur, nous avons, au lieu d'H Cl dilué, passé de l'eau distillée. Après un volume de 500 ml, nous n'avons vu apparaître ni Na ni K : les cations étaient restés fixés et nous avons pu alors les libérer par HCl dilué dans les conditions habituelles.

Nous passons donc pour la fixation, un volume de plasma directement sur la colonne, puis 1 à 2 volumes d'eau distillée avant d'éluer. Dans ces conditions nous ne retrouvons au maximum que 1 pour 1500 du Na^+ initial et 1 pour 500 du K^+ . La plupart des plasmas passent facilement à un débit voisin de 1 ml par minute.

Toutefois, les plasmas des cirrhotiques, à cause de leur viscosité particulière ou plus vraisemblablement de leur facilité de précipitation surtout en milieu légèrement acide, passent très difficilement. Après quelques ml de plasma, le débit diminue considérablement et peut même tomber à zéro : la colonne se bloque.

Pour ces plasmas nous déprotéinisons par l'acide trichloracétique à 10 % à parties égales. Dans ce cas, seulement 1 pour 1000 du Na^+ et 1 pour 400 du K^+ du filtrat trichloracétique ne sont pas fixés sur la résine.

Nous avons essayé la déprotéinisation en deux temps : deux tiers du volume du plasma sont d'abord utilisés puis le culot de centrifugation est repris par un tiers d'acide. Cette méthode plus longue ne donne pas de meilleure fixation.

La déprotéinisation avec de l'acide trichloracétique à 20 %, que nous avons essayée, n'est pas utilisable car elle donne un surnageant plus acide et une fixation incomplète sur la résine. Nous retrouvons 1 pour 800 du Na^+ initial et 1 pour 300 du K^+ qui ne sont pas fixés.

La fixation du plasma passé directement est plus complète que celle d'un filtrat trichloracétique même à 10 %.

En résumé nous fixons donc le plasma en le passant de préférence directement sur la résine et en lavant avec 1 à 2 volumes d'eau distillée. Chez les cirrhotiques, nous passons le plasma déprotéinisé à partie égale avec l'acide trichloracétique à 10 % ; nous lavons aussi avec 1 volume d'eau distillée avant l'élution.

Pour les *urines* et les *liquides* légèrement protéiques (ascite par exemple) le produit peut être passé directement sur la colonne, à un débit assez lent, voisin de 1 ml par minute, comme pour les plasmas. D'après le dosage des quantités de Na et de K fixés, nous avons trouvé inutile de laisser en contact, (en fermant le robinet de l'ampoule), le liquide à fixer avec la résine comme le propose NORDMANN [61], dans la technique de dosage des bases totales. Après la fixation, nous lavons avec quelques ml d'eau distillée, pour éviter toute précipitation au moment de l'élution.

2) Etude des modalités d'élution.

Sur la résine, qui contient les cations fixés sur les groupes sulfoniques, on fait couler un acide faible qui restitue d'abord le Sodium puis le Potassium selon le modèle de la courbe 1 p. 45.

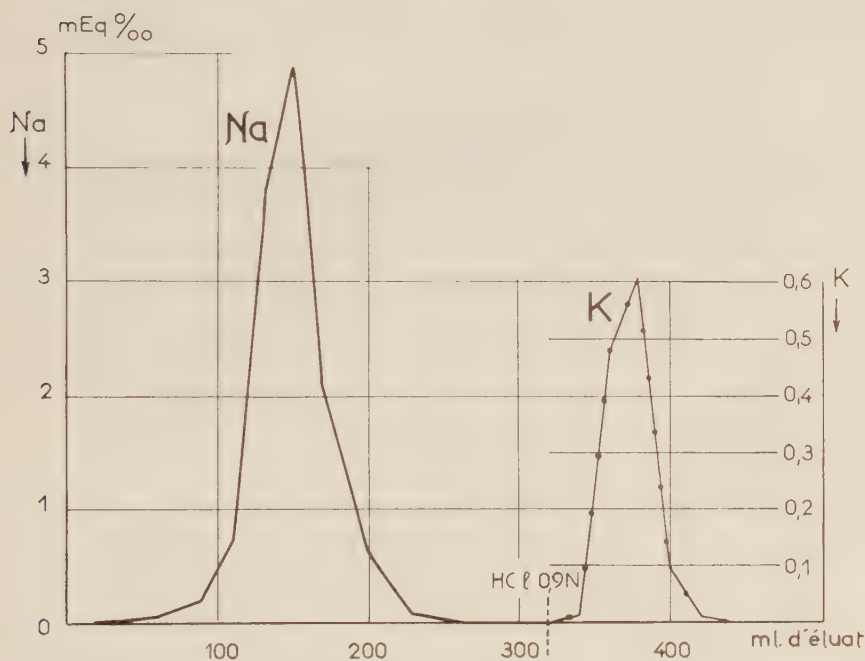
a) CHOIX DE L'ACIDE.

ClO_4H :

Il était tentant, à la suite de KAYAS [37] d'utiliser, au moins dans la première partie de l'élution, l'acide perchlorique dont le sel de Na est plus soluble que celui du K. Nous avons d'abord essayé avec Dowex 50 l'acide perchlorique N, puis 0,5 N qui ne donnent aucune séparation. Avec des acides 0,3 N et 0,2 N nous avons un début de séparation, mais le Potassium apparaît dans l'éluat au moment du maximum de concentration du Sodium. La meilleure concentration est 0,15 N. Avec l'acide 0,1 N

les sommets de Na et de K sont très étalés et il reste toujours beaucoup de Sodium, quand le K commence à apparaître.

Nous avons obtenu, avec un acide 0,15 N, une séparation incomplète, le Potassium élué dans la deuxième partie étant souillé de plus de 2 mEq pour 100. Nous avons été gênés aussi car l'acide perchlorique contient du Na (Prolabo 0,30 mEq pour 100 — Merck 0,20 mEq pour 100).



COURBE 1.

Concentration des éluats en Na et K en fonction du volume passé. Dowex 50-12X-100 à 200 mesh. 1,4 ml/min-HCl 0,24 N puis 0,9 N.

CIH :

Nous avons alors employé pour nos essais HCl 0,2 N car la plupart des auteurs utilisent des titres de 0,15 à

0,3 N. Nous utilisons un acide chlorhydrique Merck qui contient moins de 0,005 mEq de Na^+ pour 100.

b) CHOIX DE LA RÉSINE.

Les résines G 50 P et IR 120 éluées avec HCl 0,2 N, à un débit de 1,5 ml par minute, nous donnent une mauvaise séparation.

On peut tracer les courbes d'éluution où figurent, en fonction des ml d'éluats passés sur la colonne, les concentrations de Na^+ et de K^+ de chaque échantillon en mEq par litre. Les courbes du type de la courbe 1 sont résumées dans le tableau IV suivant :

TABLEAU IV.

Elutions avec diverses résines.

(Pour chaque ion figurent les ml d'éluats où il apparaît puis où il disparaît ainsi que la position du maximum avec, entre parenthèses, la concentration en mEq pour mille au maximum).

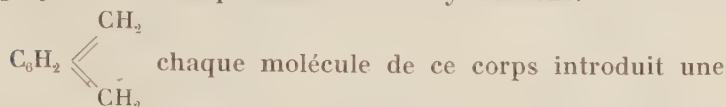
Type de résine	Sodium			Potassium		
	début	maximum	fin	début	maximum	fin
G 50 P.....	50	150 (5,1)	300	180	330 (0,41)	510
IR 120.....	40	170 (4,4)	320	220	360 (0,40)	570

Une bonne séparation exige qu'il n'y ait pas de chevauchement des courbes des deux ions et qu'il y ait entre elles un intervalle de 40 à 100 ml d'éluat qui ne contienne ni Na^+ ni K^+ . On voit qu'avec ces deux résines nous en sommes loin, puisque la fin du Sodium se situe en plein Potassium, presque à son maximum.

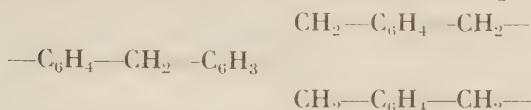
Nous essayons alors diverses résines Dowex 50. SWEET [73] utilisait un grain colloïdal qui permet une bonne séparation mais le débit est très faible, ce qui fait durer la séparation 10 h environ et les résultats sont peu reproductibles.

Depuis, GREGOR [28] a mis en valeur l'importance du nombre des *liaisons croisées* qui augmentent la cohésion

moléculaire et la sélectivité comme nous l'avons vu à propos de la théorie de LING. Les résines Dowex sont formées de longues chaînes non ramifiées de polymérisation de styrène—C₆H₄—CH₂—C₆H₄—CH₂—C₆H₄—CH₂. En polymérisant en présence de di-vinyl-benzène.



liaison croisée entre deux chaînes de polystyrène :



Le pourcentage de di-vinyl-benzène ajouté indique le % de liaisons croisées. La résine Dowex 50-12 X (12 % de liaisons di-vinyl-benzène), qui est la plus sélective, a été employée par ARONS [3]. Parmi les Dowex 50-12 X nous avons essayé celles qui ont des particules de diverses tailles. Les dimensions des particules influent remarquablement sur le débit :

Résine	Taille des particules	Débit maximum
100 à 200 Mesch	(149 à 74 microns)	3 ml/min.
200 à 400 Mesch	(74 à 38 microns)	0,8 ml/min.
Inf. à 400 Mesch	(Inf. à 38 microns)	0,4 ml/min.

TABLEAU V.

Elutions suivant les dimensions des particules de résines.

Résines Dowex	Débit	Sodium			Potassium		
		début	maximum	fin	début	maximum	fin
12 X-100 à 200 Mesch	2 ml/min.	60	135 (5)	220	280	410 (0,4)	650
12 X-200 à 400 Mesch	0,8 ml min.	100	175 (4,6)	290	420	560 (0,39)	730
12 X-inf. à 400 Mesch	0,4 ml/min.	100	170 (4,7)	260	420	570 (0,39)	780

Nous avons choisi la résine 100 à 200 Mesch qui donne une séparation satisfaisante et assez rapide (5 h 30). Les autres résines donnent une séparation plus accentuée : l'intervalle est plus large (130 et 160 ml) mais les maxima sont moins élevés, et surtout la manipulation dure 15 h et 30 h ce qui est incompatible avec l'utilisation des radioéléments.

ARONS emploie la résine moins de 400 Mesch, mais il est obligé de recourir à une pompe, qui, placée sous la colonne, augmente le débit et le régularise. Nous préférons utiliser la résine 100 à 200 Mesch qui donne des maxima un peu plus élevés et nous réglons le débit avec le robinet de l'ampoule à décantation.

c) DÉBIT DE L'ÉLUTION.

Nous avons fait varier les débits en utilisant HCl 0,24 N pour éluer le Na^+ et le K^+ de 10 ml de plasma fixés sur des colonnes de 14 mm de diamètre et contenant du Dowex 50-12 X, 100 à 200 Mesch.

TABLEAU VI.

Elutions suivant différents débits.

Débit	Sodium			Potassium			Durée
	début	maxi- mum	fin	début	maxi- mum	fin	
0,9 ml/min.	80	160	280	360	500	680	12 h
1,4 ml/min.	60	150	270	340	450	620	7 h 30
1,8 ml/min.	50	120	240	280	380	580	5 h 30

On voit que les « intervalles », où il n'y a plus ni Na^+ ni K^+ , sont de :

80 ml pour un débit de 0,9 ml par minute.

70 ml pour un débit de 1,4 ml par minute.

40 ml pour un débit de 1,8 ml par minute.

Nous choisissons donc le débit de 1,4 ml par minute qui, assez rapide, (l'élution dure 7 h) assure un « intervalle » de 70 ml, ce qui évite les contaminations réciproques. Le débit peut être légèrement augmenté mais ne doit pas dépasser 1,8 ml par minute.

d) TITRE DE L'ACIDE.

Sur quatre colonnes identiques, remplies de Dowex 50-12 X, 100 à 200 Mesch, et ayant fixé 10 ml de plasma, nous avons fait passer, à un débit de 1,4 ml par minute, HCl à divers titres.

TABLEAU VII.
Elutions avec HCl à divers titres.

Titres de HCl	Sodium			Potassium		
	débit	maximum	fin	débit	maximum	fin
0,20 N	80	160 (4,5)	300	380	500 (0,40)	700
0,24 N	60	150 (4,8)	270	340	450 (0,45)	620
0,26 N	50	140 (5)	250	300	430 (0,48)	580
0,30 N	40	140 (5,2)	240	260	380 (0,50)	540
0,24 N, puis 0,9 N..	60	150 (4,8)	270	320	380 (0,6)	420

Comme l'indique le tableau, quand la concentration de l'acide augmente, les maxima sont plus élevés et moins étalés, les « intervalles » sont moins importants. Nous choisissons HCl 0,24 N, qui laisse un « intervalle » de 70 ml, entre le Na^+ et le K^+ , et donne des maxima de Na et de K assez aigus. Le K^+ est long à passer et a une courbe étalée.

Pour gagner du temps, et augmenter la concentration maxima dans l'éluat de K^+ , nous avons essayé de terminer l'élution à l'aide d'un acide plus concentré qui libère le K^+ lorsque le Na^+ est complètement élué. Nous avons utilisé HCl 0,9 N qui donne la courbe I, des concentrations

de Na et de K en fonction du volume d'éluat passé. (p. 45).

Après la disparition du Sodium, on compte 30 ml, avant de verser HCl 0,9 N. Le maximum de K⁺, qui était de 0,45 mEq pour mille, passe à 0,6 mEq pour mille. L'acide, plus fort, libère un peu de Sodium (de l'ordre de 0,02 mEq pour mille) qui passe, dès le début, dans les 30 premiers ml (il suffit de les éliminer pour avoir une meilleure séparation). Dans ces conditions, 5 heures au maximum suffisent pour effectuer la séparation.

e) REPRODUCTIBILITÉ : Dimensions des colonnes, influence de la température.

A l'usage, nous nous sommes aperçus que, toutes les conditions précédentes étant fixées, (Résine 12 X — 100 à 200 Mesch — Acide 0,24 N à un débit de 1,4 ml par minute) les maxima se situaient parfois différemment. Nous avons remarqué que, lorsqu'il y avait plus de résine, le maximum pouvait être retardé du 150° ml au 200°, et même plus loin.

TABLEAU VIII.

Elutions avec des colonnes de diverses dimensions.

Dimensions de la colonne	Sodium			Potassium			Début acide 0,9 N
	début	maximum	fin	début	maximum	fin	
17 × 95 mm	150	240 à 280 (4,1)	380	490	570 à 590	700	475
14 × 90 mm	120	180 à 230 (4,2)	300	380	410 à 440	510	350
17 × 55 mm	80	170 (5,7)	280	390	430	490	370
14 × 75 mm	80	170 (6)	270	340	380	430	320

Avec la première colonne, dans laquelle il y a beaucoup de résine, les maxima sont en plateau et très retardés. La deuxième colonne, qui est moins large (diamètre 14 mm) et qui contient moins de résine, donne des maxi-

ma toujours en plateau, mais moins retardés. Avec une colonne large (17 mm) et de faible hauteur (55 mm) les maxima sont aigus, moins élevés, qu'avec une colonne de 14 mm de diamètre sur 75 mm de haut, qui est celle que nous avons choisie.

Dans ces conditions, les expériences sont bien reproductibles. Il est bon de régénérer les colonnes seulement quelques jours avant l'emploi, sinon la résine peut reprendre du Sodium au verre de l'ampoule à décantation. Avant d'éluer le K^+ avec HCl 0,9 N, il est bon de vérifier l'absence de Sodium dans l'éluat.

Quand la température s'élève, l'élution est plus facile, les maxima sont avancés et plus élevés, mais il faut des variations de 10° pour avoir des changements significatifs. Il suffit donc en pratique d'utiliser la température de laboratoire en évitant les variations trop importantes.

f) RENDEMENT DE L'ÉLUTION.

Il était intéressant de savoir si, dans nos conditions d'expériences, nous retrouvions à l'élution, la totalité des ions alcalins fixés. Nous avons donc choisi des colonnes de 75 mm de haut et 14 mm de diamètre, de Dowex 50-12 X — 100 à 200 Mesch. Nous avons fixé, par passage direct de plasma, 3.700 microEq de Na et 190 microEq de K. L'élution a été effectuée avec HCl 0,24 N puis 0,9 N, au débit de 1,4 ml par minute.

Dans quatre expériences successives nous avons retrouvé 86,8-88-89,6 et 89,8 % du Sodium et 85,8-87,7-91 et 94,6 % du Potassium, ce qui représente une perte de 6 à 15 % qui n'influe pas sur les mesures de radioactivité car l'activité spécifique est conservée comme nous le verrons plus loin (p. 75).

Le fait le plus important est d'obtenir des produits purs. Nous avons trouvé, en moyenne, 0,01 mEq de K pour 100 de Sodium dans la première partie de l'élution et 0,5 mEq de Na, pour 100 mEq de K, dans la deuxième partie. Dans les mesures de radioactivité, ceci donne une souillure de 1/500 pour chaque ion, ce qui est négligeable.

En conclusion, nous avons étudié, pour plusieurs résines échangeuses d'ions, les modalités de la fixation, puis de l'élution.

Nous avons fait varier, dans diverses éluions, le débit, le titre de l'acide et les dimensions de la colonne de chromatographie.

Nous employons finalement le Dowex 50-12 X — 100 à 200 Mesch, dans des colonnes de 75 mm de haut et 14 mm de diamètre. Nous éluons, au débit de 1,4 ml par minute, avec HCl 0,24 N, puis 0,9 N.

Nous séparons ainsi dans le plasma, les radioéléments avec moins de 1 pour 500 d'impureté pour chaque ion, en cinq heures.

CHAPITRE VI.

DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE PROPOSÉE. MESURE DES VITESSES DE DIFFUSION DU SODIUM ET DU POTASSIUM CHEZ L'HOMME PAR SÉPARATION CHROMATOGRAPHIQUE DES RADIOÉLÉMENTS.

Principe.

Après injection intraveineuse d'un mélange de ^{42}K et de ^{24}Na , les activités spécifiques des deux ions séparés par chromatographie sont mesurées dans le plasma après 0,5-1-2-3 et 20 heures. La vitesse de diffusion du K^+ , liée à son intégration dans des complexes organiques cellulaires, est ainsi évaluée par rapport à la vitesse de diffusion du Na^+ considérée comme obéissant presque uniquement aux lois de diffusion physique.

Matériel.

- 1) Sodium 24 sous forme de CO_3Na_2 (*) à 0,4 millicurie par gramme ;
- 2) Potassium 42 sous forme de CO_3K_2 (*) à la charge maxima, soit environ 16 millicuries par gramme ;
- 3) Résine Dowex 50 (**)-12 X — 100 à 200 Mesch ;
- 4) Ampoules à décantation, en verre pyrex, dont la partie cylindrique mesure 1,4 cm de diamètre.

(*) Il est indispensable d'utiliser la forme *carbonate* de Na et de K fourni par le Commissariat à l'Energie Atomique. Boîte Postale 2, à Gif-sur-Yvette.

(**) Se trouve chez Paris-Labo, rue du Cardinal-Lemoine, à Paris.

- 5) Flacons de 1000 millilitres en polyéthylène ;
- 6) Tubulures en polyéthylène avec pinces à vis ;
- 7) Acide chlorhydrique Merck (qui doit contenir moins de 0,01 mEq p. mille de Sodium) servant à préparer des acides 0,24 N et 0,9 N ;
- 8) Matériel de mesure de radioactivité comprenant :
 - a) des compteurs de Geiger-Muller pour mesures en sec et en liquide : par exemple Tracerlab TGC 1 à 23 milligrammes par cm^2 avec château de plomb et passeur d'échantillons ;
Tracerlab TGC 5 avec château de plomb Saphymo CP 64 ;
 - b) un écran d'aluminium à 160 milligrammes par cm^2 ;
- 9) Matériel de photométrie de flamme pour Sodium et Potassium avec des solutions étalons, dans l'eau distillée et HCl différemment dilué, conservées dans des flacons en polyéthylène.

Mode opératoire.

1) PRÉPARATION DES SOLUTIONS MÈRES DE CO_3K_2^* ET CO_3Na_2^* .

Par malade, injecter 80 μc de CO_3Na_2^* et 250 μc de CO_3K_2^* . Avec la radioactivité de nos fournitures, 200 mg de CO_3Na_2 et 15 mg de CO_3K_2 nous donnent les doses nécessaires, mais avec des échantillons moins radioactifs, on peut être amené à augmenter la quantité de sels de Na^+ ou de K^+ . On ne peut, en ce cas, dépasser la dose de 200 mg de CO_3K_2 pour une injection intraveineuse (2,9 mEq).

Les carbonates sont pesés puis dissous séparément dans l'eau, acidifiée par HCl, en présence de phénol sulfone phtaléine (mettre la quantité d'HCl nécessaire pour obtenir après dissolution du carbonate, la neutralité, c'est-à-dire la transformation en chlorures).

Faire bouillir pour stériliser et compléter avec de l'eau distillée stérile dans une fiole jaugée stérile.

Vérifier que la solution de CO_3K_2^* contient moins de 0,4 mEq de Na^+ pour 100 mEq de K^+ . (Une plus grande impureté de Sodium augmenterait la radioactivité de la solution dont plus de 0,5 % serait due au Na^+).

2) INJECTION DES IONS RADIOACTIFS.

Dans une fiole stérile on mélange :

80 μc de CO_3Na_2^*

250 μc de CO_3K_2^*

La solution, qui contient les doses nécessaires à une injection, est complétée à 25 millilitres et rendue isotonique par l'apport de la quantité nécessaire de NaCl .

Cette solution est injectée, chez le malade que nous ne laissons pas à jeun à cause de la durée de l'épreuve, dans le tube d'une perfusion veineuse de glucose à 50 g % qui vient d'être mise en place. La seringue de 50 millilitres étanche est remplie en rinçant la fiole avec de l'eau physiologique stérile. Enlever la perfusion 5 minutes après pour éviter toute dilution plasmatique. Le poids et la taille du malade sont notés avant l'injection et le poids vérifié à la fin de l'épreuve.

3) PRÉLÈVEMENTS.

Prélever les urines, au besoin par sondage, au moment de l'injection puis, lors de chaque prise de sang, après 0,5 — 1 — 2 — 3 et 20 heures. Noter leur volume. Recueillir de 15 à 25 millilitres de sang sur héparine et le centrifuger immédiatement 5 minutes à 5.000 tours par minute pour éviter tout échange plasma-globules.

4) SÉPARATION DE ^{24}Na ET ^{42}K .

a) *Préparation des colonnes de chromatographie :* (14 mm de diamètre et 75 mm de haut).

Dans autant d'ampoules à décantation qu'il y a d'échantillons plasmatiques, placer un peu de coton de verre et

verser de l'eau distillée puis la suspension de résine jusqu'à 75 mm de haut, en laissant déposer. Ajouter un flocon de coton de verre au-dessus de la résine. Régénérer alors la résine par HCl 3 N jusqu'à disparition des traces de Sodium dans l'éluat et laver à l'eau distillée jusqu'à neutralité. La régénération doit se faire seulement quelques jours avant l'emploi et la résine se conserve sous une couche d'eau distillée.

b) *Fixation des cations sur la résine.*

Au moment de l'emploi, éliminer l'eau et verser le plasma sur la résine : environ 8 millilitres pour les premiers prélèvements et 15 ml pour le dernier. Régler, avec le robinet de l'ampoule, à un débit de 1 ml par minute environ. Passer ensuite 20 ml d'eau distillée pour entraîner le plasma restant. Le liquide qui passe a l'aspect du plasma dont il contient encore toutes les protéines, en n'ayant plus ni Sodium ni Potassium.

c) *Elution du Na* par HCl 0,24 N.*

L'élution se fait avec HCl 0,24 N à un débit de 1,4 ml par minute. Il est commode d'utiliser, pour l'acide, un flacon en polyéthylène placé sur une tablette, selon le schéma suivant : une tubulure fine en polyéthylène plongeant dans le flacon siphonne ce dernier. On peut régler le débit grâce à une pince à vis placée sur la tubulure et grâce au robinet de l'ampoule à décantation. On garde pour déterminer l'activité spécifique du Na 40 ml de l'éluat, au moment de la concentration maxima, vers le 150° ml.

d) *Elution du K* par HCl 0,9 N.*

Vers le 300° ml d'acide HCl 0,24 N, vérifier au photomètre l'absence de Na⁺ dans l'éluat. Puis verser sur la colonne 100 ml de HCl 0,9 N qui entraîne le K⁺ plus rapidement que HCl 0,24 N. On élimine les 20 premiers millilitres et on garde les 40 ml suivants pour déterminer l'activité spécifique du K⁺, car ils correspondent à sa concentration maxima.

On sépare ainsi le Sodium avec moins de 0,01 mEq de K^+ pour 100 et le Potassium avec moins de 0,5 mEq de Na^+ pour 100. Il est important que les réactifs contiennent moins de 0,001 mEq pour 100 en Sodium et en Potassium.

5) MESURE DE LA RADIOACTIVITÉ.

a) *Les solutions mères de CO_3K_2 et de CO_3Na_2 sont mesurées en double deux fois par jour, durant quatre jours aux deux compteurs :*

— pour le compteur sec, il faut utiliser, les premiers jours, le Na^+ au $1/1000^e$ et le K^+ au $1/2000^e$;

— pour le compteur liquide, utiliser le $1/5000^e$ pour le Na^+ et le 20.000^e pour le K^+ .

On vérifie ainsi la décroissance, donc la période des radioéléments et l'on peut détecter les impuretés. Toutes les mesures de radioactivité sont ramenées au même temps pour pouvoir calculer la moyenne statistique de ces seize mesures.

Pour ^{24}Na $T = 15,06$ heures

Pour ^{42}K $T = 12,4$ heures

Déterminer aussi les facteurs permettant de transformer les valeurs de radioactivité mesurées en sec, pour qu'elles soient assimilables aux mesures faites en liquide.

b) *Les urines* sont mesurées au compteur sec : les quantités de Na^+ et de K^+ urinaires sont plus proches que dans le plasma et ne représentent que 0,1 % à 1 % de la radioactivité injectée.

On peut donc utiliser pour séparer les deux radioactivités, un filtre d'aluminium à 160 mg par cm^2 qui laisse passer 60 % des radiations de ^{42}K et seulement 20 % de celles de ^{24}Na .

Mesurer d'abord sans écran, pour avoir la radioactivité totale $S = Na + K$, puis avec écran, pour obtenir la valeur $S' = 0,20 Na + 0,60 K$, d'où l'on déduit la radioactivité du Na^+ et du K^+ .

L'élimination radioactive est déterminée en multipliant ces chiffres par les facteurs permettant de transformer les coups par minute (c.p.m.) secs en c.p.m. liquides. Il ne reste plus alors qu'à tenir compte du volume d'urine éliminée.

c) *La radioactivité des éluats.* Elle est mesurée au compteur liquide sur les 25 ml d'éluat conservés. Il faut compter au moins 300 c.p.m. en prolongeant la mesure 10 minutes si nécessaire. Les activités spécifiques du Na^+ et du K^+ sont déterminées dans ces éluats, au moment des concentrations maxima. L'activité spécifique est la même que celle du plasma initial, c'est le rapport des c.p.m. ‰ à la concentration en Na^+ ou K^+ ‰.

d) *Concentration en Na^+ et K^+ .*

Déterminer ensuite, au photomètre à flamme, les concentrations en Na^+ et K^+ en faisant deux mesures de deux dilutions par échantillon d'éluat. On vérifie aussi l'absence du Na^+ dans l'éluat potassique et celle du K^+ dans l'éluat sodique.

Il faut encadrer les mesures au photomètre en passant des étalons dilués dans des solutions de même nature et de même acidité, pour Na^+ et surtout pour K^+ . Les solutions de K^+ dans l'acide chlorhydrique plus ou moins dilué, donnent une déviation photométrique inférieure à celle des solutions aqueuses.

CALCULS ET RÉSULTATS.

On calcule le nombre de mEq de Na^+ et de K^+ échangés pour chaque temps t (0,5 — 1 — 2 — 3 et 20 heures après l'injection).

$$E_t = \frac{\text{c.p.m. injectés} - \text{c.p.m. excrétés}}{\frac{\text{c.p.m. } \text{‰} \text{ dans l'éluat}}{\text{Na ou K } \text{‰} \text{ de l'éluat}}}$$

Ramener d'abord toutes les mesures de radioactivité au même temps. Le numérateur est calculé en tenant compte du volume injecté et de son contenu radioactif

en solution-mère, et des volumes des échantillons urinaires. Le dénominateur représente l'activité spécifique du plasma.

Rapporter ensuite au kg de poids corporel pour avoir des résultats comparables.

En rapportant ensuite aux mEq échangés à 20 heures, on exprime en pourcentages de Na^+ et de K^+ échangés suivant le temps. La différence des pourcentages échangés représente la différence de la vitesse d'expansion du K^+ par rapport à celle du Na^+ .

CHAPITRE VII.

DISCUSSION DE LA TECHNIQUE PROPOSÉE.

Pour pouvoir mesurer la précision de notre technique, il nous faut tout d'abord faire l'étude critique des mesures de radioactivité et des mesures au photomètre de flamme.

1. — Etude critique des mesures de radioactivité.

a) LA DURÉE DES MESURES ou plus exactement le nombre total d'impulsions comptées est directement en rapport avec la précision des mesures. En comptant 100 impulsions la précision est de $\pm 10 \%$; pour 1.000 de $\pm 3,1 \%$; pour 5.000 de $\pm 1,4 \%$ et pour 10.000 de $\pm 1 \%$. Il faut donc compter 5.000 à 10.000 impulsions pour avoir une précision satisfaisante.

Dans toutes les mesures il faut tenir compte du mouvement propre de l'appareil qui est dû à l'irradiation ambiante et aux rayons cosmiques. Il dépend de l'appareillage et doit être vérifié au moins au début et à la fin de chaque série de mesures. Pour nos appareils, il varie de 20 à 100 coups par minute. Même en prolongeant les mesures il faut un minimum de 200 coups par minute pour qu'elles soient valables.

A l'inverse il faut que la concentration radioactive soit inférieure à 5.000 coups par minute. Dans les compteurs de Geiger-Muller, après chaque impulsion, il existe un temps minimum pour que la différence de potentiel revienne à sa valeur initiale. Les particules traversant le compteur pendant ce temps ne sont pas comptées. A

cause de l'inertie du compteur et aussi des systèmes enregistreurs, pour des impulsions trop fréquentes, certaines sont « oubliées » par l'appareil et l'on fait une erreur par défaut.

Nos mesures durent donc de 2 à 15 minutes sur des concentrations radioactives de l'ordre du millier de coups par minute (c.p.m.).

b) LE COMPTEUR LIQUIDE, quel que soit le modèle adopté, demande certaines précautions pour obtenir des mesures précises. C'est appareil est constitué par un tube plongeant dans la solution radioactive. Avec le TGC 5 on peut utiliser 25 ml de liquide, ce qui augmente très largement la sensibilité et la précision par rapport au compteur sec. La géométrie du comptage est excellente et il y a très peu de pertes par réflexion ou diffusion. Certains rayonnements β mous sont toutefois arrêtés en partie par l'épaisseur de la couche liquide. Les mesures sont effectuées immédiatement sans dessiccation préalable des échantillons. Nous évitons ainsi dans notre cas la concentration des éluats.

La contrepartie est une manipulation plus longue et plus délicate que pour le compteur sec. L'appareil est très fragile et très exposé aux heurts : il faut le manipuler avec soin ce qui demande du temps. A chaque mesure nous devons diminuer le voltage, débrancher le compteur, le sortir, le laver, l'essuyer. Il faut dégager l'éprouvette dans laquelle il plongeait, enlever le liquide déjà compté, rincer, essuyer, mesurer le liquide à compter, replacer le compteur et rebrancher l'appareil. Bien que la partie efficace du tube, soit l'extrémité qui plonge dans le fond de l'éprouvette, il faut mesurer exactement le volume de la solution radioactive. Tout ceci expose plus le manipulateur aux radiations que pour les mesures avec un compteur sec.

c) LE COMPTEUR SEC est d'un usage facile et rapide ; le tube de Geiger est immobilisé dans le chateau de Plomb

et ce sont les échantillons que l'on déplace successivement sous le compteur. Nous pouvons facilement intercaler des filtres d'aluminium qui arrêtent une partie des radiations.

Nous utilisons ce compteur seulement pour les urines, l'écran de 160 mg par cm^2 nous permettant de séparer les radiations du Na^+ et du K^+ . Par des mesures de solutions étalons de Na^+ et de K^+ avec et sans écran, nous déterminons expérimentalement à chaque expérience le pourcentage d'absorption de l'écran pour le Na^+ et pour le K^+ (en général respectivement 80 % et 40 %).

Après avoir fait la part du Na^+ et du K^+ il faut transformer ces c.p.m. secs, en mesures faites en liquide. Nous déterminons d'après les étalons secs et liquides les facteurs qui permettent de transformer des c.p.m. mesurés en sec en c.p.m. mesurés en liquide. En mettant 1 ml dans le compteur sec pour 25 ml dans le compteur liquide, il faut multiplier par 8 pour le Sodium (6,9 à 10,4) et par 25 pour le Potassium (22,2 à 31). Les variations de ces facteurs suivant les expériences, proviennent des compteurs eux-mêmes qui peuvent varier, de la géométrie du tube de Geiger par rapport aux échantillons et aussi de la position sur la réglette du filtre d'aluminium, qu'il est important de vérifier. Le facteur du K^+ est de 25 et même parfois au-dessus car les rayonnements β durs sont totalement comptés en mesure liquide. Au contraire, en mesure sèche, une partie peut être perdue par diffusion entre l'échantillon et le tube. La géométrie du comptage est bien moins bonne qu'en liquide.

Les rayonnements du Sodium, constitués surtout de rayons β mous, sont absorbés en grande partie par l'épaisseur du liquide.

Avec le compteur sec, les échantillons radioactifs sont mesurés dans des coupelles d'aluminium. Puis on opère une dessiccation progressive et assez rapide pour que le produit soit bien réparti au fond sans grimpage sur les parois. Nous ajoutons dans ce but une goutte de Teepol dilué au dixième. Après avoir utilisé d'abord une étuve

à 80°, nous préférons sécher avec un appareil à rayonnement infra-rouge.

En mettant le minimum de produit radioactif, nous évitons l'«effet sel» : l'urine peut former des cristaux où se concentre la radioactivité. Avec les liquides protéiques, ascite et surtout sérum, il se forme une pellicule qui peut absorber les rayonnements les moins énergiques.

d) CALCULS DE DÉCROISSANCE.

Toutes nos mesures, pour être comparables, sont rapportées à la même heure, en général à 20 h, le jour de l'injection. La décroissance des éléments radioactifs se fait selon une fonction exponentielle. La courbe de la radioactivité en fonction du temps est une hyperbole que l'on peut transformer en droite en utilisant un papier semi-logarithmique. Mais la méthode graphique n'est pas très précise pour transformer diverses mesures au même temps. Nous préférons utiliser le calcul par les logarithmes. Par définition, après une période T , les c.p.m. au temps $O = x_0$ auront diminué de moitié et seront devenus x tels que : $\log x = \log x_0 - \log 2$.

A n'importe quel temps t en heures, la valeur x de radioactivité pourra être transformée en x_0

pour le ^{24}Na dont $T = 15,06$ heures,

$$\text{Log } x_0 = \log x \pm \frac{0,30}{15,06} t (\pm 0,0199 t)$$

pour le ^{42}K dont $T = 12,4$ heures,

$$\text{Log } x_0 = \log x \pm \frac{0,30}{12,4} t (\pm 0,0242 t)$$

Nous calculons d'abord la différence de temps entre l'heure de la mesure et l'heure de référence. Cette différence multipliée par 0,0199 ou 0,0242 est additionnée ou soustraite du log. des c.p.m. à transformer et donne le log. des c.p.m. au nouveau temps. Par exemple : 2.582 c.p.m. mesurés à 18 h 30 donneront à 20 heures le même jour :

TABEAU IX.

Calcul de décroissance. Transformation à 20 h, de 2.582 c.p.m. de Na et de K, mesurés à 18 h 30.

	Différence temps en heures	Facteur de décroissance	Log des c.p.m.		c.p.m. à 20 h
			à 18 h 30	à 20 h	
Na ...	— 1,5	$\times 0,0199 = - 0,0298$	3,412	3,3822	2.411
K	»	$\times 0,0242 = - 0,0363$	3,412	3,3757	2.375

Pour simplifier, nous avons établi des tableaux donnant directement d'après la différence de temps, le facteur de multiplication à appliquer aux c.p.m. à transformer sans passer par les logarithmes. Par exemple, pour le Potassium : $\log x_0 - \log x = 0,0242 t$; $\log \frac{x_0}{x} = 0,0242 t$ soit pour 1 h 0,0242
pour 10 h 0,242

et pour 1 h $\frac{x}{x_0} = 1,058$; pour 10 h $\frac{x}{x_0} = 1,746$.

Nous avons pour le ^{42}K et pour le ^{24}Na un tableau d'heure en heure et un autre de 5 minutes en 5 minutes. Ainsi pour une différence de 3 h 45 il faudra multiplier ou diviser successivement par le facteur 3 h (1,181 pour K) et le facteur 45' (1,042 pour K).

e) PROTECTION CONTRE LES RADIATIONS.

Si le ^{24}Na et le ^{42}K sont des éléments à vie courte, donc peu dangereux, leurs radiations sont cependant assez énergiques. Le K^* possède des β durs (2,04 et 3,6 MeV) et le Na^* surtout des γ (1,38 et 2,76 MeV).

La dose de 0,3 roentgen par semaine admise comme tolérable au Congrès de Radiologie de 1953 [60] permet d'utiliser par semaine, à cause de leur vie courte, 90 μc de Na^* et 120 μc de K^* . Les doses de 80 μc de Na et 240 μc de K sont dans les limites à condition de ne pas répéter les expériences avant deux semaines.

Pour les malades la concentration en un point de l'organisme n'est pas à craindre. Le Na^+ diffuse dans toute la masse de l'organisme et le K^+ dans toute la masse musculaire. Nous évitons l'irritation de la veine en injectant dans une perfusion de solution glucosée.

Pour les manipulateurs, la répétition des expériences où peut figurer l'étude de plusieurs sujets, exige de prendre des précautions strictes. Il faut éviter le contact direct avec le produit radioactif. Nous utilisons des écrans de Plomb pour isoler les produits les plus marqués. Il faut surtout se tenir à distance des sources radioactives.

Si le rayonnement β du ^{24}Na est arrêté par 2 mm d'eau, il en faut 19 mm pour arrêter celui du ^{42}K . 100 μc éloignés de 1 m donnent une irradiation de 0,19 milliroentgen par heure pour le Na^* et 0,019 milliroentgen/heure pour le K^* . 100 μc éloignés de 1 cm fournissent 10.000 fois plus de roentgen/heure (r/h), c'est-à-dire respectivement 1,9 r/h et 0,19 r/h.

La protection la plus efficace, en plus des écrans, sera donc d'augmenter la distance des sources.

2. — Etude critique des mesures au photomètre de flamme. Influence de ClH .

a) PRÉCAUTIONS GÉNÉRALES.

Nos dosages de Na^+ et de K^+ sont effectués dans les éluats où nous avons mesuré la radioactivité, afin de déterminer l'activité spécifique des deux cations.

Nous attendons, pour faire nos mesures, que la radioactivité ait diminué afin d'éviter la dissémination par nébulisation. Nos mesures sont faites en double, pour deux dilutions différentes. Nous avons utilisé un photomètre Lange Modèle III fonctionnant au Butane, puis un appareil Electrosynthèse utilisant le même gaz.

Nombre d'utilisateurs ont décrit les précautions à prendre pour obtenir de bonnes mesures : la flamme doit être

stable, le débit du liquide constant. La stabilité des pressions d'air et de gaz est très difficile à obtenir parfaitement et nous préférons encadrer les mesures des échantillons à doser par celles des solutions étalons les plus proches.

Le photomètre de flamme permet des mesures précises et rapides mais exige en retour un appareil étudié en détail et un soin constant de l'utilisateur. Outre une flamme stable et un débit constant, il faut une cellule photoélectrique sensible pour les diverses longueurs d'ondes utilisées ; ces dernières sont le plus souvent séparées par des écrans interférentiels.

En utilisant l'appareil, nous n'oublions jamais que ce n'est pas une machine automatique à fournir des chiffres de Na^+ et de K^+ . Nous surveillons sans cesse l'appareil pour détecter tout phénomène anormal, baisse de débit notamment, qui peut provenir d'une simple poussière dans le nébuliseur.

b) INFLUENCE DE HCl .

L'influence de divers ions Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , PO_4^{---} sur les dosages du Na et du K a été étudiée notamment par WEST [82] et VALANCIA [79] qui ne parlent pas de l'influence de l'ion Cl^- .

Dans nos éluats, le K^+ est dissous dans HCl 0,9 N. Nos premières mesures, comparées à des étalons de K^+ dilués dans l'eau, étaient variables avec la dilution. Plus celle-ci était faible, plus le dosage du K^+ donnait des résultats bas. Une étude systématique nous a permis de mettre en évidence l'influence de HCl sur les dosages de K^+ et de Na^+ au photomètre de flamme.

Nous avons préparé des solutions chlorhydriques de divers titres contenant les mêmes quantités de K : 0,1 — 0,2 — 0,3 et 0,4 mEq %. Les courbes des déviations photométriques en fonction de la concentration en K donnent, avec chaque solvant, des droites différentes dont les pentes varient avec la concentration en HCl .

TABLEAU X.

*Diminution des déviations dues au K^+ ,
en solution dans l'acide chlorhydrique (*).*

Solvant	Déviations photométriques pour diverses concentrations de K				Rapports $\frac{\text{eau}}{\text{acide}}$
	0,1 mEq ‰	0,2 mEq ‰	0,3 mEq ‰	0,4 mEq ‰	
Eau	15	30	45	60	1
HCl 0,1 N.	14,5	28,5	41,5	55	1,06
» 0,25 N.	14	27,5	40	52,5	1,14
» 0,5 N.	12,5	24	36	48	1,26
» 0,9 N.	11	21	32	43	1,40
» 1,18 N.	10	20	30	40	1,50
» 1,5 N.	9	17,5	26,5	35	1,71
» 2,5 N.	7,5	14,5	21	29	2,10

(*) La baisse de sensibilité due à HCl est évaluée en faisant le rapport des déviations photométriques des solutions aqueuses aux déviations des solutions chlorhydriques. Ces différents rapports permettent de transformer des mesures faites en solutions chlorhydriques, en mesures faites dans l'eau.

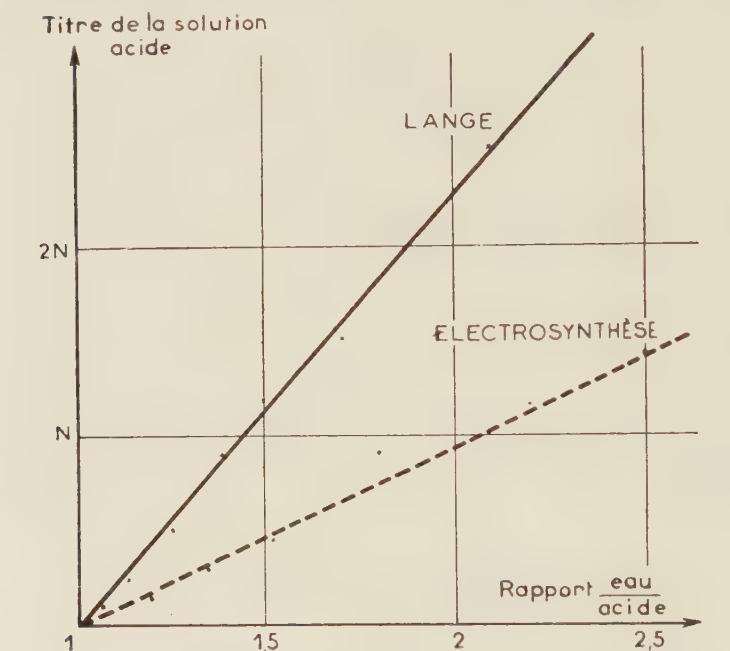
Nous avons pu tracer la courbe (2) des facteurs de multiplication en fonction de l'acidité : c'est une droite, aux erreurs d'expériences près.

On pourrait, même, pour une solution chlorhydrique de titre inconnu, déterminer le facteur à appliquer aux déviations photométriques pour avoir une mesure exacte, sans faire des solutions étalons dans un acide de même titre.

En fait, nous préférons faire des solutions étalons à diverses normalités chlorhydriques. En effet, ces facteurs de multiplication correspondent au photomètre Lange pour 0,35 divisions d'air et 10 de gaz. Si l'on change les pressions les rapports eau/acide varient.

En changeant d'appareil la différence est encore plus grande : ainsi avec le K^+ , en utilisant un appareil Electro-synthèse avec 160 mm d'air les rapports sont plus élevés et figurent ci-contre et dans la courbe (2) p. 68.

Acidité en Normalité	0,14	0,30	0,45	0,9	1,18	1,40
Rapports eau/acide ..	1,2	1,35	1,52	1,80	2,20	2,50



Valeur des facteurs permettant de transformer des mesures faites en solutions chlorhydriques en mesures effectuées dans l'eau.

COURBES 2.

Influence de l'acidité chlorhydrique sur la lecture du K aux photomètres Lange et Electrosynthèse.

Nous avons étudié aussi l'influence de diverses concentrations chlorhydriques sur le dosage du Na⁺ au photomètre Lange. On obtient, suivant le solvant, des courbes en éventail et on peut ainsi déterminer les rapports eau/acide.

Ces rapports des mesures eau/acide augmentent avec l'acidité et s'alignent sur une droite mais moins bien que pour le K.

TABLEAU XI.

*Diminution des déviations dues au Na⁺
en solution dans l'acide chlorhydrique.*

Solvant	Déviations photométriques pour diverses concentrations de Na ⁺					Rapports $\frac{\text{eau}}{\text{acide}}$
	0,5 mEq ‰	0,8 mEq ‰	1 mEq ‰	1,3 mEq ‰	1,5 mEq ‰	
Eau	32,5	45	51	60	66,5	1
HCl 0,25 N.....	31,5	43	48,5	57,5	63	1,05
» 0,5 N.....	30,5	41,5	47,5	56	61,5	1,07
» N.....	29,5	40	45,5	54,5	59,5	1,11
» 2 N.....	26	35,5	41,5	49	53	1,25
» 3 N.....	22	30	35	42	45,5	1,46

e) INFLUENCE D'AUTRES ACIDES.

Voulant préciser si cette action était due à l'acidité, nous avons étudié l'influence de SO₄H₂ puis de l'acide trichloracétique et de l'acide perchlorique que nous avons à utiliser dans certains dosages de tissus.

Nous avons envisagé surtout l'action de ces acides sur la déviation due au K⁺, puisqu'avec HCl la diminution due à l'acide était plus importante pour le K⁺ que pour le Na⁺.

1°) L'acide sulfurique nous donne le tableau suivant :

TABLEAU XII.

*Diminution des déviations dues au K⁺
en solution dans l'acide sulfurique.*

Solvant	Déviations photométriques pour diverses concentrations de K ⁺				Rapports $\frac{\text{eau}}{\text{acide}}$
	0,1 mEq ‰	0,2 mEq ‰	0,3 mEq ‰	0,4 mEq ‰	
Eau	15	30	45	60	1
SO ₄ H ₂ 0,5 N.....	14,5	29	43,5	57,5	1,04
N	14	28	41	55	1,08
2 N	8,5	17	25	33,5	1,8

On voit que, pour la même acidité, les facteurs de transformations sont bien plus faibles avec SO_4H_2 qu'avec HCl . La diminution, qui devient très importante entre N et 2 N , semble être due à la viscosité de SO_4H_2 à cette concentration, ce qui diminue le débit considérablement.

2°) L'acide trichloracétique a une influence certaine.

TABLEAU XIII.

*Diminution des déviations dues au K^+
en solution dans l'acide trichloracétique.*

Solvant	Déviations photométriques pour diverses concentrations de K^+				Rapports eau acide
	0,1 mEq ‰	0,2 mEq ‰	0,3 mEq ‰	0,4 mEq ‰	
Eau.....	15	30	45	60	—
Acide trichloracét. 5 ‰...	14,5	28,5	42,5	55,5	1,06
» 10 ‰...	13,5	27	38,5	50,5	1,13
» 20 ‰...	10,5	20,5	31	41	1,46

De nouveau, l'influence de l'acide est plus sensible aux fortes concentrations et la viscosité peut en être la cause.

TABLEAU XIV.

*Diminution des déviations dues au K^+
en solution dans l'acide perchlorique.*

Solvant	Déviations photométriques pour diverses concentrations de K^+			Rapports eau acide
	0,2 mEq ‰	0,4 mEq ‰	0,5 mEq ‰	
Eau.....	30	60	74	—
ClO_4H 5 ‰ (0,5 N).....	24	47,5	58,5	1,25
10 ‰ (N).....	19	39	47,5	1,55
20 ‰ (2 N)...	14	27,5	34,5	2,16

3°) L'acide perchlorique agit aussi sur la flamme mais il ne semble pas que soit en cause un phénomène de viscosité. De plus la lecture est difficile car la flamme est instable, sans doute à cause des propriétés explosives de cet ion.

L'action de l'acide trichloracétique est nette aussi dans le cas du dosage du Sodium. Celle de l'acide perchlorique est plus difficile à déceler à cause du Sodium qu'il contient déjà (2 mEq par litre).

d) ACTION DE L'ION Cl^- .

De tous les acides, c'est HCl qui diminue le plus les déviations photométriques pour la même normalité. Nous avons donc émis l'hypothèse que cette action était due à l'ion Cl^- et non pas aux ions H^+ . Afin de le vérifier nous avons fait deux séries d'expériences.

Nous avons passé au photomètre divers sels de Potassium à la même normalité. Nos solutions de ClK , NO_3K , CO_3K_2 et OHK contenaient toutes 1 mEq par litre. Nous pensions, si Cl^- agissait, trouver pour ClK une déviation inférieure à celles données par les autres composés potassiques. En fait il n'en est rien et toutes les déviations sont identiques à 1 division près.

Pensant alors que la concentration en Cl^- était peut-être insuffisante pour agir, nous avons fait des solutions de ClH , de Cl NH_4 et OHNH_4 0,9 N contenant des doses croissantes de K^+ . Les déviations photométriques dues au K^+ présent dans ces trois solvants, permettent le calcul des rapports eau/solvant. Si l'action de HCl sur la lecture du K^+ est due à l'ion Cl^- , on doit retrouver pour Cl NH_4 le rapport obtenu pour ClH . La solution ammoniacale 0,9 N permet de tenir compte de l'influence de l'ion NH_4^+ .

Nous avons pu établir le tableau suivant :

TABLEAU XV.

*Déviation photométriques dues au K^+
en solution dans ClH , $ClNH_4$ et $OH NH_4$ équimolaires.*

Solvant	Déviation photométriques pour diverses concentrations de K^+				Rapports eau solvants
	0,2 mEq ‰	0,3 mEq ‰	0,4 mEq ‰	0,5 mEq ‰	
Eau	30	45	60	74	—
ClH 0,9 N	21	32	43	52	1,40
$Cl NH_4$ 0,9 N	24,5	38	50	61	1,25
$OH NH_4$ 0,9 N	33	50	68	81	0,9

Si notre hypothèse est vraie, le rapport de $ClNH_4$ doit être le produit de deux rapports : celui de ClH qui diminue la sensibilité et celui de $OH NH_4$ qui l'augmente. Et en effet nous trouvons que $1,40 \times 0,9 = 1,26$.

Les lectures avec $OH NH_4$ sont difficiles car la flamme est instable à cause de la volatilité du produit.

Nous avons alors essayé des solutions de $ClNa$ et de $OHNa$: les facteurs de multiplication sont respectivement de 1,35 et de 0,95. Le produit des facteurs ClH et $OHNa$ donne : $1,4 \times 0,95$ soit 1,33 ce qui est le facteur $ClNa$ aux erreurs d'expériences près.

L'influence de l'ion Cl^- semble donc bien démontrée.

Nous pouvons rapprocher ceci du fait bien connu, que plus un composé organique contient de Chlore, moins il est combustible. Ainsi dans les dérivés du méthane CH_4 , qui est combustible, on passe par le chlorure de méthyle CH_3Cl , le chlorure de méthylène CH_2Cl_2 pour arriver au Chloroforme $CHCl_3$ et au tétrachlorure de carbone qui sont ininflammables puisque ce dernier est même utilisé comme extincteur.

Cette action de l'ion Cl^- se fait-elle en agissant sur la température de la flamme ou directement sur l'émission du rayonnement du Na^+ et du K^+ ?

Notons que l'influence des solvants est plus importante pour l'ion K^+ qui demande pour être excité une plus haute température de flamme que le Na^+ .

L'influence de la température sur l'état d'excitation des atomes est bien connue. Une flamme peu chaude limite l'excitation aux éléments légers : le Na^+ et le K^+ sont les premiers à être excités ; on sait que pour doser Mg^{++} et Ca^{++} au photomètre de flamme, un brûleur à acétylène est nécessaire, qui donne une flamme plus chaude. La variation de l'influence du solvant selon les appareils et selon les pressions d'air et de gaz suggère aussi le rôle, non négligeable, de la température de la flamme.

Il semble que la température de la flamme soit un des facteurs les plus importants qui commandent la précision des mesures.

Il n'est pas possible de déterminer à l'avance des facteurs de correction suivant le solvant. L'usage d'une courbe n'est pas non plus à conseiller, même si l'on remplace quelques points au début d'une série de mesures. Le mieux est de préparer des étalons dans le même solvant que l'échantillon à doser et de les passer entre chaque mesure.

3. — Précision de la technique.

Nos résultats à chaque temps sont exprimés d'abord en mEq échangés de Na et de K. Nous allons calculer séparément la précision pour chacun des éléments de la formule :

$$\frac{\text{Radioactivité injectée} - \text{Radioactivité excrétée}}{\text{Activité spécifique}}$$

a) ERREURS SUR LA QUANTITÉ INJECTÉE.

La radioactivité de la solution injectée est déterminée en mesurant des solutions diluées de Na^* et de K^* en double, deux fois par jour durant 4 jours. Nous faisons ainsi 16 mesures, ce qui nous donne une erreur de $\pm 0,1 \%$. En même temps nous vérifions la pureté radio-

active des éléments injectés. Dans nos premières expériences avec des chlorures nous avons pu déceler ainsi des traces de $^{32}\text{P}^*$ et de $^{35}\text{S}^*$. Mais la souillure la plus fréquente est celle du ^{24}Na dans CO_3K_2^* . Actuellement le Commissariat à l'Energie Atomique nous fournit un produit très pur : nous avons, dans deux expériences, vérifié par chromatographie, la radioactivité due au Na^* dans CO_3K_2^* . Les solutions de CO_3K_2 à 20 mEq $\%$ contenaient de 0,04 à 0,08 mEq $\%$, soit 0,2 à 0,4 mEq de Na^+ pour 100 mEq de K^+ . Après chromatographie 0,5 à 1 % des c.p.m. du K^* étaient dus au Na^* .

Le volume injecté est plus difficile à déterminer exactement. Les solutions sont mesurées à la pipette stérile dans une fiole où nous les prélevons avec une seringue étanche. Nous rinçons la fiole avec un peu d'eau physiologique, puis la seringue, à la fin de l'injection, dans le liquide de perfusion. Nous travaillons ainsi à ± 2 % près.

b) ERREUR SUR LA QUANTITÉ EXCRÉTÉE.

La radioactivité des urines est faible en regard de la quantité injectée. Pour les premières heures elle représente 0,1 à 0,5 % de la dose injectée et pour 20 heures elle ne correspond au total qu'à 1 à 4 % au maximum. La mesure des radioactivités de Na et de K par différence, au moyen de l'écran d'aluminium ne donne qu'une précision de 8 % comme nous l'avons déterminé en mesurant les activités spécifiques (AS) du Na et du K des urines chromatographiées. Finalement le numérateur : quantité injectée — quantité excrétée est déterminé à ± 3 % près.

c) ERREUR SUR L'ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE DU PLASMA.

Les lectures au photomètre de flamme sont faites en double sur deux dilutions différentes. Nous encadrons nos mesures en passant des solutions étalons dans les mêmes solvants que la solution à doser, notamment pour HCl 0,9 N. Nous obtenons ainsi une précision de ± 2 % pour le dosage des cations.

La précision des mesures de radioactivité, à condition qu'il y ait 5.000 à 10.000 impulsions comptées, atteint au moins $\pm 1,5 \%$. Il faut vérifier l'absence de Na^+ dans l'éluat de K^+ et prendre toutes les précautions vues précédemment.

Avec les erreurs autres, notamment dans la mesure des 25 ml mis dans le compteur, on arrive à $\pm 2 \%$ et l'AS est finalement déterminée à $\pm 4 \%$ près. La précision sur les quantités échangées est donc de 7% : 3% pour le numérateur et 4% pour le dénominateur.

d) CONSTANCE DE L'ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE.

L'AS est-elle constante durant l'éluion ? Est-elle la même pour Na^+ et pour K^+ dans les éluats successifs et dans le plasma initial ? La résine fait-elle une distinction entre ^{23}Na et $^{24}\text{Na}^*$ ou entre ^{39}K et $^{42}\text{K}^*$?

Telles étaient les questions auxquelles il fallait répondre pour savoir si nous avions le droit de ne garder qu'une partie des éluats et d'en déduire l'activité spécifique du plasma.

Nous avons passé sur colonne une solution de ClNa^* contenant 635.000 c.p.m. par ml pour 310 mEq par litre, dont l'activité spécifique était donc de 2.050 c.p.m. par micro-Equivalent. Cinq éluats successifs nous ont donné des AS de 1820, 2100, 1950, 1720 c.p.m. par microEquivalent. Les valeurs extrêmes sont peu précises car il y a peu de Sodium et les erreurs sont élevées sur le dosage de l'ion comme sur les mesures de radioactivité. Sur les autres valeurs l'erreur est de 2,5 et 3 % ce qui est satisfaisant pour des mesures faites au compteur sec.

La solution de ClK^* que nous avons chromatographiée correspondait à 23.000 c.p.m. par microEquivalent au compteur sec. Les activités spécifiques des différents éluats étaient de 22.150, 24.500, 25.000, 23.500, 22.650, 24.600, 24.000, 25.000, 23.900, 24.500, ce qui donne des erreurs relatives allant de 1,5 à 8,5 %.

Pour Na^* , comme pour K^* , l'activité spécifique ne varie pas d'une manière significative au cours de l'élution et, au maximum, elle est la même que celle de la solution avant chromatographie. Les quantités qui restent fixées sur la résine n'influent pas et il n'y a pas dans nos conditions d'expériences, de différenciation entre les ions radioactifs et les autres.

Nous avons déterminé l'activité spécifique de plasmas ne contenant qu'un seul ion radioactif avant et après chromatographie.

Avec le K^* mesuré au compteur liquide, nous avons pour deux échantillons, des AS de :

627 c.p.m. par mEq avant et de 621 après
et 377 » » » » » » 372 et 373 après

Avec Na , 137 c.p.m. par mEq avant et de 148 après
101 » » » » » » 111 et 98 après

On voit que les AS sont les mêmes à 10 % près, ce qui correspond à l'erreur de la méthode que nous avons calculée à ± 7 %.

En conclusion, nous avons vu que :

1°) La précision des mesures de radioactivité dépendant du nombre total d'impulsions comptées, il est préférable de compter environ 8.000 impulsions en un temps allant de 2 à 15 minutes.

Nous utilisons un compteur liquide, qui augmente la sensibilité mais est d'une manipulation délicate. Le compteur sec nous sert pour les urines, car il permet la séparation du ^{24}Na et du ^{42}K par un écran d'aluminium.

Nous exposons nos calculs de décroissance et insistons sur la protection contre les radiations.

2°) Dans les mesures au photomètre de flamme, le solvant joue un rôle et notamment ClH diminue les déviations dues aux ions.

En étudiant l'action d'autres acides et de divers chlorures sur les déviations photométriques, nous avons pu tenter d'expliquer ce phénomène, non pas par l'acidité

mais par la présence de l'ion Cl^- , qui semble agir sur la température de la flamme.

3°) La précision de notre détermination des quantités échangées est de $\pm 7\%$: 3% pour le numérateur et 4% pour le dénominateur.

Nous avons vérifié que nous pouvions assimiler l'activité spécifique d'une fraction des éluats à celle du plasma car, dans nos conditions d'expérience, la résine ne fait pas de différence entre les ions radioactifs et les autres.

CHAPITRE VIII.

RÉSULTATS NORMAUX ET PATHOLOGIQUES. SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE.

A) Sujets normaux.

Nous avons pu chez des sujets de sexe masculin, normaux au point de vue équilibre hydrominéral, calculer le nombre de mEq de Na et de K échangés par kg après 0,5 — 1 h — 2 h — 3 h et 20 h. Les moyennes figurent en bas du tableau XVI p. 79 avec l'écart-type $\sigma =$

$\sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N-1}}$ $\bar{x}$ étant la valeur moyenne, x les différentes valeurs ayant servi à la calculer et N le nombre de cas.

L'écart type par rapport à la moyenne $Sx = \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$ figure aussi.

Ce calcul d'erreur est donné simplement comme indication car le nombre de cas est trop faible. De plus de nombreux facteurs interfèrent, comme dans toutes expérience biologique, en plus de ceux qui commandent directement la précision de la technique. Ainsi nos résultats sont exprimés en mEq échangés par rapport au poids qui est lui-même une mesure de référence toute relative ; pour les sujets normaux, nous avons choisi le poids théorique calculé selon la formule de LORENTZ :

$Pt = T - 100 \frac{T - 150}{4}$ où T est la taille en cm.

1) LES RÉSULTATS.

Ce tableau montre que les mEq échangés de Na^+ , aussi bien que ceux de K^+ , augmentent régulièrement en fonc-

tion du temps, ce qui correspond à l'échange des ions marqués avec leurs homologues des différentes parties du corps, tandis que s'abaissent leurs activités spécifiques.

TABLEAU XVI.

Quantités de Na et de K échangées en mEq par kg.
Résultats normaux.

Sujets	0,5 h		1 h		2 h		3 h		20 h	
	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K
1	32,4	16,4	36,9	24,3	36,4	32,8	35	29,2	44,2	43,9
2	39	23,5	34,4	20,1	39,9	26,9	36,8	27,4	45,2	42,5
2	31,2	—	37,4	29,3	42,8	38,7	40	42,3	43	46,7
4	28,1	24,7	36	25,9	36	39,3	35,9	38,4	43,6	42,5
5	37	—	36,4	—	42,9	41,7	46,7	46,1	48	—
Moyenne	33,5	24,5	36,2	24,9	39,6	35,9	38,9	36,7	44,8	43,9
σ	4,42	3,96	1,14	3,82	3,33	5,99	4,76	8,13	1,96	1,98
Sx	1,97	2,29	0,51	1,91	1,49	2,67	2,13	3,64	0,88	0,99

σ = écart type.

Sx = écart type par rapport à la moyenne.

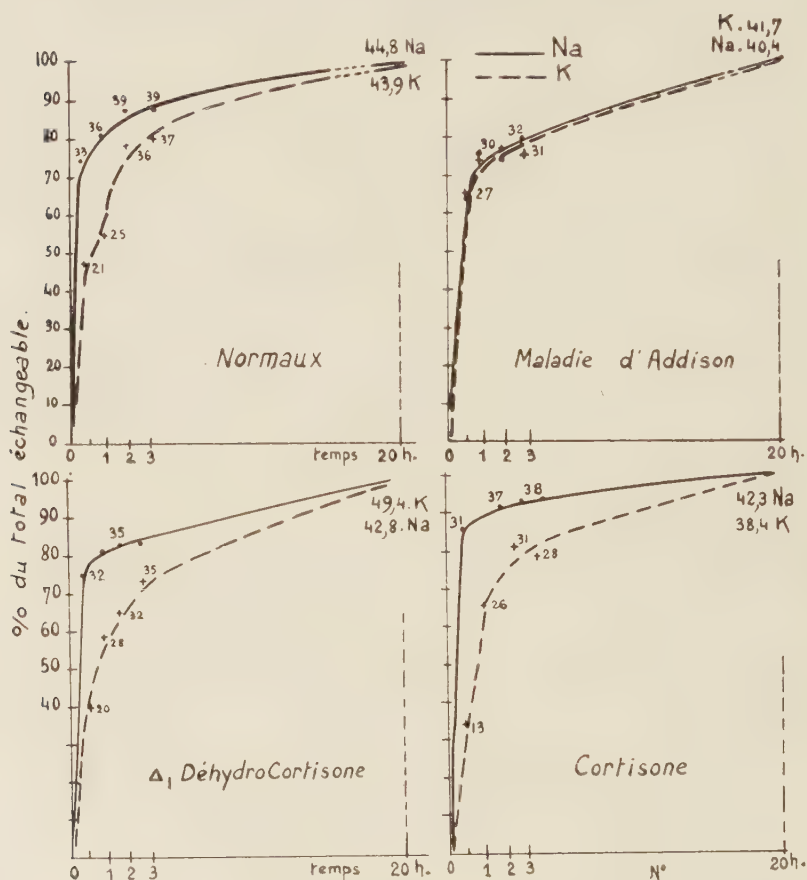
Une courbe (3) exprime mieux le phénomène. Il y apparaît que le Na échangé atteint rapidement une valeur importante dès 0,5 et 1 heure pour n'augmenter que très peu ensuite. Le K^+ au contraire, peu échangé à 30', augmente progressivement pour atteindre à 20 heures une valeur proche du Na. La différence entre les deux quantités échangées par kg diminue progressivement en fonction du temps.

Ces courbes indiquent les vitesses de diffusion du K^+ et du Na^+ , ou plus exactement leurs vitesses d'expansion puisque le volume lui-même, où les ions diffusent, augmente simultanément.

Ces courbes représentent les variations des vitesses dc/dt de diffusion des ions radioactifs, mais le facteur

de varie lui-même en fonction des variations des volumes atteints par l'échange, de $\frac{dm}{dv} = \frac{\text{variation de masse}}{\text{variation de volume}}$

N'ayant pas assez de points pour faire l'analyse mathématique des courbes de diffusion nous avons choisi de rapporter les quantités échangées après 0,5, 1 h, 2 h, et



COURBES 3.

Comparaison des vitesses d'échange du K et du Na chez l'homme (en % du total échangeable).

Les chiffres indiquent les mEq échangés au moment considéré.

3 h, en pourcentage de l'échangeable final à 20 h. Nous exprimons ainsi les vitesses d'une manière relative et sans doute plus parlante.

TABLEAU XVII.

Pourcentages des quantités de Na et de K échangées par rapport à celles de 20 h.

0.5 h		1 h		2 h		3 h		20 h	
Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
74,7	47,1	80,7	54,5	88,3	78,5	86,7	80,3	100	100
Différence K — Na ..		-27,6 %		-26,2 %		- 9,8 %		- 6,4 %	
								0	

2) LEUR SIGNIFICATION.

La courbe (3) et le tableau XVII nous montrent que le Na est déjà échangé à 75-80 %, dès 30' — 1 heure. Nous pensons pouvoir expliquer ces chiffres par le fait que la diffusion du Sodium s'effectue surtout dans le secteur extracellulaire. Les réactions métaboliques cellulaires influent peu sur la diffusion qui est donc surtout un phénomène physique.

La courbe du K^+ indique, au contraire, que cet ion s'échange beaucoup plus progressivement, au fur et à mesure qu'il rentre dans les cellules. L'expansion du K^+ est réglée en grande partie par l'importance des échanges métaboliques de la cellule.

La distance entre les deux courbes, ou la différence entre les pourcentages d'échange par rapport au point final, doit nous permettre d'évaluer l'importance des réactions métaboliques du K^+ . La courbe du Sodium nous sert alors de référence pour évaluer la diffusion de base, essentiellement physique, qui peut varier, par exemple, si le volume interstitiel a augmenté. La différence entre

les pourcentages est importante, surtout à 0,5 et 1 heure, puis va ensuite en s'amenuisant : elle semble pouvoir exprimer le retard d'expansion du K^+ par rapport au Na^+ et évaluer l'activité des complexes protéines-dérivés phosphorés-Potassium, mis en valeur par LING.

L'incorporation du K^+ dans ces complexes organiques serait relativement lente par rapport à une simple diffusion physique.

Certains de nos résultats peuvent s'exprimer suivant les données classiques d'espace extracellulaire et de masse échangeable totale. Nous allons les comparer aux chiffres de la littérature afin de pouvoir les contrôler.

B) Comparaison de nos résultats aux mesures d'espaces et d'échangeable total.

a) MESURE DE L'ESPACE EXTRACELLULAIRE.

Le volume extracellulaire de nos témoins a pu être déterminé, à quelques jours de notre mesure, par la méthode au sulfocyanate [12] tandis que l'eau totale était évaluée par l'antipyrine [33].

TABLEAU XVIII.

Mesures des espaces extracellulaires et de l'eau totale chez nos sujets normaux.

Malades	Quantité échangée/kg à 1-2 h	Espace Na en %	Espace SCN en %	Eau totale en %
1	36	25	21	53,4
2	38	26,4	24	53
3	36,5	25,3	24,5	69
4	36	25	26,7	69
5	39,2	27,3	—	—
Moyenne...	37,4	25,8	24,05	61,1
FAUVERT [21]		25,4	24,8	
WINKLER [84]		27,6	37	
KALTREIDER [35]		24,8 (à 3 h) 25,9 (à 6 h)	25	

Nos mesures d'eau totale varient de 53 à 69 % du poids du corps, (moyenne 61,1 %). Les différents auteurs indiquent 50 à 72 % du poids suivant les techniques utilisées.

Les valeurs généralement admises pour le volume extracellulaire déterminé au Thiocyanate vont de 20 à 27 % du poids du corps. Nos résultats, qui figurent dans le tableau, vont de 21 à 26,7 % avec une moyenne de 24 %.

Dans le tableau figurent aussi les moyennes des quantités échangées par chaque malade après 1 h et 2 h. Ces valeurs nous ont permis de calculer pour cette période, l'espace Na en % du poids du corps.

$$\text{L'espace Na} = \frac{\text{Radioactivité injectée} - \text{Radioactivité excrétée}}{\text{Radioactivité du plasma}}$$

$$\text{Le Na échangé} = \frac{\text{Radioactivité injectée} - \text{Radioactivité excrétée}}{\text{Activité spécifique du plasma}}$$

L'activité spécifique (AS) étant la radioactivité du plasma divisée par la concentration en mEq, il suffit de multiplier le dénominateur par 144 mEq pour obtenir l'espace Na. Nos mesures de Na échangé étant rapportées au kg il suffit de multiplier par 100 pour avoir le volume extracellulaire déterminé par le Na⁺ en % du poids corporel.

Notre valeur d'espace SCN⁻ est légèrement inférieure à celle de l'espace Na⁺ mais la faible différence montre la correspondance entre les deux mesures. FAUVERT, qui a fait ces deux déterminations sensiblement aux mêmes temps que nous : SCN de 45' à 75' et Radio-Na de 1 h 1/2 à 3 h, trouve des valeurs proches, l'espace Na⁺ étant plus élevé que l'espace SCN⁻ : respectivement 25,4 et 24,8 %.

Pour SCN⁻ les valeurs ne sont pas comparables car la méthode utilisée n'est pas la même. Les mesures des auteurs américains sont plus tardives (6 h) et sans extrapolation selon la méthode de CACHERA [10]. Il n'empêche que la valeur de 37 % obtenue par WINKLER n'est pas confirmée par les autres auteurs. Les espaces Na⁺ de la

littérature varient de 24,8 à 27,6 et dépendent du moment de la mesure comme l'indiquent les valeurs de KALTREIDER, différentes à 3 h et 6 h.

b) LA DIFFUSION DU ^{24}Na .

FAUVERT et LOVERDO distinguent, après le compartiment vasculaire V, divers espaces A — B — C — D où l'équilibre avec le Na injecté est respectivement atteint à 10', 1 h, 4 h, 24 h. Ils déterminent ces divers espaces par l'analyse mathématique de la courbe de diffusion. Ils considèrent seulement à chaque temps l'échange entre deux compartiments et négligent les échanges bien moins intenses avec les compartiments voisins.

Ainsi de 1 h à 4 h les échanges sont massifs entre B et C et on peut négliger ceux qui peuvent se produire entre V, A et B, et entre C et D. De cette manière ils analysent la courbe de diffusion en 6 courbes exponentielles simples.

La courbe théorique d'échanges successifs correspond à une équation de la forme :

$$A = A_1 e^{-\lambda_1 t} + A_2 e^{-\lambda_2 t} + \dots A_n$$

où l'on ne garde que deux termes en général : BURCH [9].

Les interprétations mathématiques des courbes de diffusion de FAUVERT et de BURCH se recoupent d'ailleurs en pratique. Notre but n'est pas de faire l'étude mathématique de la diffusion du Na et du K ; il nous faudrait pour cela beaucoup plus de points notamment avant 30 minutes. Mais les résultats concordent pour indiquer qu'à partir de 30 min — 1 h, la décroissance de l'AS du sérum est très lente (KALTREIDER, FAUVERT, BURCH).

MOREL [53] dans des expériences sur le lapin considère l'équilibre atteint 10 minutes après l'injection. Etudiant l'élimination rénale du Radio-Sodium chez le rat, par enregistrement continu [54] il considère comme négligeables les variations de la radioactivité du plasma. Exprimant les résultats en espace Na, il trouve de 27 à 183 minutes des valeurs de 25 à 28,7 % du poids.

Nos résultats indiquent que dès 30' 74,7 % du Na sont échangés. La décroissance est donc faible mais non négligeable.

c) LA DIFFUSION DU ^{42}K .

La décroissance du radio-K après injection a été peu étudiée. WALKER [80] a étudié chez le lapin le début de la diffusion pour calculer la perméabilité capillaire. Il trouve que par minute, la quantité de K^+ , qui quitte le système vasculaire, représente 2,2 fois la quantité totale de K^+ contenue dans le plasma.

MOREL [55] en étudiant les modalités de l'excrétion rénale du K^+ est amené à préciser la courbe de décroissance de ^{42}K après injection intraveineuse ; il note une diminution très rapide de l'activité spécifique durant la première demi-heure.

En exprimant nos résultats en AS, nous observons une diminution plus sensible en fonction du temps pour K^+ , que pour Na^+ . Cette période de 30 minutes à 20 heures a été peu étudiée. Avec les auteurs qui ont étudié la perméabilité capillaire dans les 10 premières minutes et ceux qui ont mesuré l'échangeable total vers 24 h — 48 h, on ne trouve dans la littérature que ceux qui ont défini les modalités d'échange du K^+ entre le plasma et les globules rouges.

HEVESY [31] trouve à 15 minutes un renouvellement de 4 % par heure. Dans des expériences plus longues, RAKER [64], SCHEPPARD [67] et SOLOMON [70] mesurent des renouvellements de 1,6 — 1,8 et 1,9 % par heure. Mais les globules sont des cellules mortes à partir desquelles il est difficile d'extrapoler aux autres cellules et dont l'étude est d'un intérêt limité pour explorer les phénomènes de membrane.

d) MESURE DU Na ET DU K ÉCHANGEABLES.

Nous avons comparé les mesures d'échangeable total des divers auteurs à nos mesures à 20 h. Le tableau suivant indique les résultats.

TABLEAU XIX.
Quantités échangeables de Na et de K
en mEq par kg.

Auteurs	Na.		K.	
	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes
FORBES [23]	41,9	39,5	—	—
CORSA [15]	—	—	46,3	—
DEANE [17]	41,2	—	—	—
AIKAWA [2]	—	—	—	31,5
WARNER [81]	43,8	41,5	—	—
MILLER [52]	43,7	42,3	—	—
ARONS [4]	42,9	39,7	51,1	42,4
MOORE [57]	42,1	39,6	46,3	39
Résultats personnels mesurés après 20 h.	44,8	—	43,9	—

Nous trouvons pour le Na_e des valeurs proches légèrement plus élevées et pour le K_e des valeurs plus faibles. De plus notre rapport Na_e/K_e est presque égal à 1 : 1,02.

Ceci peut s'expliquer par le fait que nos mesures se situent plus tôt, alors que l'équilibre du K n'est sans doute pas complètement atteint.

Parmi les nombreux auteurs qui ont calculé l'échangeable du Na et du K, peu ont cherché à l'interpréter, notamment dans les cas pathologiques. ARONS définit le rapport Na_e/K_e mais ne cite que deux malades ; il a trouvé pour l'un (virilisme avec tumeur surrénale) 0,74 ; pour l'autre (polyartérite noueuse avec dénutrition) 1,7 ; son rapport normal étant à 0,84.

C) Addisoniens.

Nous avons pu étudier, avec notre méthode, cinq sujets atteints de maladie d'Addison. Ils n'avaient pas reçu d'implants et leur traitement était arrêté depuis 3 à 5 jours.

1) RÉSULTATS.

Ils sont exprimés dans le tableau XX, page 87, en mEq de Na et de K échangés par kg à chaque temps. Nous

avons calculé l'écart type σ et l'écart type par rapport à la moyenne S_x . Les ions échangés sont exprimés, en pourcentage des mesures faites 20 h après l'injection, dans le tableau XXIII, page 90, et les courbes 3, page 80.

a) Les quantités de Na et de K échangées à chaque temps sont très proches. Nous observons, en valeur absolue, des différences de 1,6 — 2,8 — 0,6 — 1,1 et 1,3 mEq/kg entre le Na et le K.

Les pourcentages du Na échangé diffèrent peu de ceux du K. Les différences oscillent entre — 3,6 % et + 7 % au lieu des valeurs de — 27 % à — 6 % que nous avons obtenues chez les sujets normaux.

Les courbes d'augmentation de l'échangeable des deux ions sont pour ainsi dire identiques.

b) Les valeurs absolues du Na échangé sont nettement plus faibles que celles du sujet normal, à tous les temps, mais surtout au début de la diffusion, entre 30 minutes et 2 heures.

TABLEAU XX.

Quantités de Na et de K échangées en mEq par kg.

ADDISONIENS.

Sujets	0,5 h		1 h		2 h		3 h		20 h	
	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K
1	27,1	29,2	30,2	32,6	31,1	30,2	33,8	30,5	43	41,1
2	33,6	22,7	34,6	38,5	—	—	37	37,6	47,2	—
3	28,1	31,5	31,4	29,2	34,4	—	33,7	28,7	42,6	49,7
4	22,7	24,3	26,3	—	24,7	30,2	25,6	—	34	38,5
5	24,1	—	25,5	29,3	30,9	28,7	30,9	27,5	35,2	37,5
Moyenne	27,5	26,9	29,6	32,4	30,3	29,7	32,2	31,1	40,4	41,7
σ	4,22	2,45	3,76	4,36	4,04	0,87	4,27	4,52	5,82	5,55
S_x	1,88	1,23	1,68	2,18	2,02	0,5	1,91	2,26	2,6	2,78

σ = écart type.

S_x = écart type par rapport à la moyenne.

On a : 27,5 — 29,6 — 30,3 — 32,2 — 40,4 mEq/kg pour
33,5 — 36,2 — 39,6 — 38,9 — 44,8 mEq/kg chez
le sujet normal.

c) Les valeurs absolues du K échangé sont de :

26,9 — 32,4 — 29,7 — 31,1 — 41,7 mEq/kg pour
21,5 — 24,9 — 35,9 — 36,7 — 43,9 mEq/kg chez
le sujet normal.

Chez l'Addisonien, les valeurs après 0,5 et 1 heure sont plus élevées et celles à partir de 2 h sont plus faibles.

2) DISCUSSION.

a) L'étude des courbes permet de supposer que les deux ions se comportent sensiblement de la même manière et que leurs métabolismes doivent être bien plus proches l'un de l'autre que chez le sujet normal. L'expansion du K^+ qui est plus rapide que normalement se rapproche d'une diffusion physique, ce qui fait penser à une diminution des complexes organiques cellulaires dont il fait normalement partie.

b) La diminution des valeurs absolues du Sodium échangé, très marquée en 30 minutes et 2 heures, suggère une diminution du volume extracellulaire, ce qui est un caractère bien connu de l'insuffisance surrénale.

Les valeurs du Sodium échangé en 1 h — 2 h nous ont permis de calculer l'espace Na^+ qui a une valeur moyenne de 20,8 % nettement abaissés par rapport à la moyenne de 25,8 % des sujets normaux.

c) La réduction du K échangé entre 3 heures et 20 heures peut être interprétée comme la diminution de la masse totale échangeable de K.

L'échange du K se fait jusqu'à 3 heures plus vite que chez le sujet normal. Le taux élevé de K plasmatique ne suffit pas à expliquer ce résultat. Nous pensons qu'il y a moins d'obstacles à sa diffusion qui est plus proche de celle du Sodium. Elle serait moins retardée par l'incorporation du K dans les complexes cellulaires qui seraient dans ce cas moins actifs ou moins nombreux.

D) Sujets traités avec des dérivés cortisoniques.

TREMOLIERES et coll. [76] ont montré que la Cortisone modifie les taux tissulaires du K^+ et des dérivés phosphorés riches en énergie.

Nous avons donc choisi d'étudier des sujets recevant depuis 4 à 10 jours :

— soit de la Cortisone, à la dose de 300 mg par jour, par voie intramusculaire,

— soit de la Δ déhydrocortisone, à la dose de 70 mg par jour par voie buccale.

Quelques sujets, en traitement depuis un ou deux mois, nous ont donné des résultats presque normaux : l'action métabolique semble plus intense au début du traitement et il se produit sans doute ensuite une autorégulation.

1) RÉSULTATS.

Ils sont exprimés dans les tableaux XXI, XXII et les courbes 3, page 80, en mEq échangés de K et de Na aux différents temps après l'injection. Le tableau XXIII, page 90, présente les pourcentages d'ions échangés suivant le temps avec leurs différences.

TABLEAU XXI.

Quantités de Na et de K échangées, en mEq par kg. Sujets recevant 70 mg par jour de Δ déhydrocortisone.

Sujets	0,5 h		1 h		2 h		3 h		20 h	
	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K
1	25,7	13,9	34,2	32,9	37,2	31	33,6	42,8	41,4	44,8
2	37,6	27,1	38,2	31,8	—	35,2	—	—	44,5	54,5
3	32	18	37,7	24,3	37,6	32,5	37,6	33	46,5	50,7
4	32,1	20,2	29,7	25,2	30,6	—	32,9	29,6	38,7	47,5
Moyenne	31,8	19,8	34,9	28,5	35,4	32,2	34,7	35,1	42,8	49,4
σ	4,86	5,55	3,92	4,43	3,93	1,12	2,53	6,85	3,43	4,18
Sx	2,43	2,77	1,96	2,21	2,27	0,65	1,46	3,96	1,72	2,09

σ = écart type.

Sx = écart type par rapport à la moyenne.

TABLEAU XXII.

*Quantités de Na et de K échangées, en mEq par kg.
Sujets recevant 300 mg par jour de Cortisone.*

Sujets	0,5 h		1 h		2 h		3 h		20 h	
	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K
1	29,1	13,2	36	18,9	43,7	23,1	46,1	24,3	49,2	40,5
2	33,6	—	41,2	30,1	35,2	32,9	34,3	30,7	40,9	40,6
3	30,2	—	32,7	28,1	34,6	36,9	33,4	29,1	36,9	34
Moyenne	31		36,6	25,7	37,8	30,9	37,9	28	42,3	38,4
σ	2,41		4,28	5,96	5,07	7,08	7,08	3,33	6,2	3,78
Sx	1,39		2,47	3,44	2,92	4,08	4,08	1,92	3,58	2,17

σ = écart type.

Sx = écart type par rapport à la moyenne.

TABLEAU XXIII.

Pourcentage de Na et de K échangés suivant le temps.

Nombre de cas		30'		1 heure		2 heures		3 heures		20 heures	
		Na	K	Na	K	Na	K	Na	K	Na	K
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Normaux	5.....	74,7	47,1	80,7	54,5	88,3	78,5	86,7	80,3	100	100
Diff. K-Na	Δ	-27,6	%	-26,2	%	-9,8	%	-6,4	%	0	
Addison	5.....	68,1	64,6	72,2	77,9	75	71,4	79,7	86,7	100	100
	Δ	-3,5	%	+5,7	%	-3,6	%	+7	%	0	
Δ cortisone	4.....	74,3	40,1	81,5	57,7	82	65,2	81	71	100	100
	Δ	-34,2	%	-23,8	%	-16,8	%	-10	%	0	
Cortisone	3.....	85,6	34,4	89,5	67	92,4	80,6	92,5	72,6	100	100
	Δ	-51,2	%	-22,5	%	-11,8	%	-19,9	%	0	

a) Les différences des pourcentages de K échangé avec ceux de Na échangé sont, en moyenne, plus importantes que chez les sujets normaux :

surtout à 30' : 34 % et 51 % (normale : 27 %)

à 2 heures : 16 % et 11 % (normale : 9 %), et

à 3 heures : 10 % et 19 % (normale : 6 %).

Les courbes d'augmentation du Na et du K échangeables sont ici plus écartées l'une de l'autre que chez le sujet normal.

b) Les valeurs absolues des mEq échangés de Na et de K, aux différents temps après l'injection, ne sont pas significatives si nous les comparons à celles obtenues chez les sujets normaux.

2) DISCUSSION.

a) Les différences importantes des pourcentages d'ions échangés suivant le temps, montrent que les métabolismes du Na^+ et du K^+ se différencient plus sous l'influence des dérivés cortisoniques.

La vitesse d'expansion du K^+ comparée à celle des sujets normaux est notablement plus ralentie par la Δ déhydrocortisone et la Cortisone. Ceci peut correspondre dans l'optique de la théorie de LING, à l'augmentation du nombre ou de l'activité métabolique des complexes protéines-dérivés phosphorés-Potassium.

b) L'absence de variations notables dans les valeurs absolues du K et du Na échangés, suggère que les traitements cortisoniques ne modifient pas sensiblement les espaces cellulaires et extracellulaires ou les capitaux totaux échangeables.

E) Cirrhoses avec ascite.

Nous avons étudié, par notre méthode :

5 cirrhoses graves, c'est-à-dire en pleine poussée évolutive après plusieurs poussées antérieures, en état de rétention sodique quasi complète et avec ascite abondante ou moyenne ;

2 cirrhoses en voie de guérison dont l'une était en pleine crise urinaire.

Quand nous l'avons pu, nous avons étudié chez ces malades la diffusion du Na^+ et du K^+ dans le liquide d'ascite.

1) RÉSULTATS.

Les tableaux XXIV et XXV et les courbes 4 et 5 pages 94 et 95 présentent les résultats en pourcentages de Na et de K échangés suivant le temps et en pourcentages de l'activité spécifique de l'ascite rapportée à celle du plasma.

TABLEAU XXIV.

Pourcentages de Na et de K échangés au cours du temps rapportés à la masse échangée en 20 heures.

Les chiffres entre parenthèses indiquent la valeur absolue du Na et du K échangés en 20 heures par kg de poids réel (en mEq).

Cas	Na				K			
	30'	1 h	2h 30	20 h	30'	1 h	2h 30	20 h
I) Cirrhoses ascitiques graves								
1	74	86	97	(51)	52	57	74	(69)
2	56	69	81	(97)	78	94	97	(30)
3	67	82	88	(46)	61	73	82	(29)
4	47	63	73	(140)	44	85	—	(39)
5	47	54	64	—	54	—	67	—
Moyenne	58	71	80,5	(83,5)	58	77	80	(42)
II) Cirrhoses en guérison								
6	45	60,5	81	(78)	13	28	37	(30)
7 (*)	76	83,5	88	(44)	30	38	60	(33)
Moyenne	60,5	72	84,5	(61)	21,5	33	48	(31,5)

(*) En grande crise urinaire.

TABLEAU XXV.

*Activité spécifique dans l'ascite rapportée en %
à celle du plasma au même moment.*

Cas	Na			
	30'	1 h	2 h 30	20 h
4	— 89	— 80	— 61	+ 5,4
5	— 83	— 78	— 54	+ 14
6	— 84	— 68	— 31	— 7
Moyenne	— 85	— 75	— 48	+ 6,2

Cas	K			
	30'	1 h	2 h 30	20 h
4	— 69	— 27,4	— 20	+ 21,4
5	— 20,5	— 19,5	+ 9,2	+ 5
6	— 79	— 47	— 32	+ 8
Moyenne	— 56	— 31,3	— 14	+ 11,4

Pour les *cirrloses graves*.

a) Les vitesses de diffusion du Na^+ sont remarquablement comparables à celles du K^+ . Les pourcentages échangés sont, pour ainsi dire, identiques.

b) Le Sodium échangeable en 20 heures est, en valeur absolue, nettement plus élevé que la normale : 83,5 mEq par kg au lieu de 44,8 chez le sujet normal ; l'augmentation, considérable, est de 87 % de la valeur normale.

Le Sodium échangé est nettement supérieur à celui des sujets normaux dès 30 minutes : 48 mEq par kg contre 33,5 normalement.

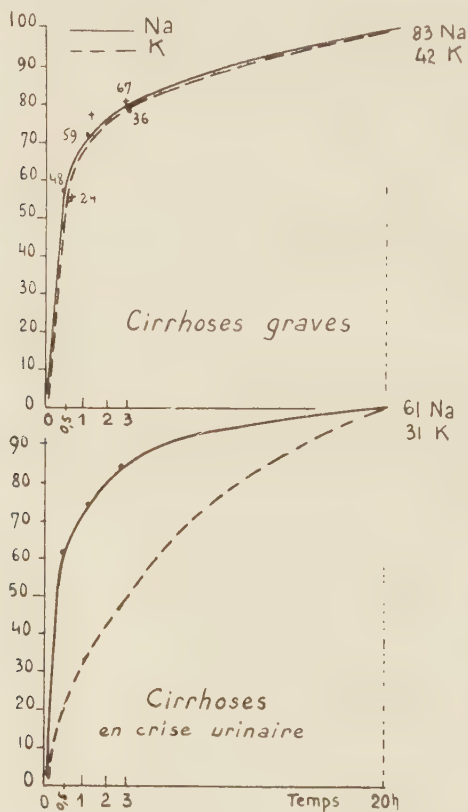
c) Le Potassium échangeable en 20 heures est légèrement abaissé, presque normal.

d) L'équilibre entre l'activité spécifique de l'ascite et celle du plasma n'est atteint qu'après 3 heures. Pendant 3 heures au moins, les traceurs de l'ascite sont à des

concentrations très inférieures à celles du plasma ; elles atteignent à 20 heures une concentration généralement plus élevée que celle du plasma.

Pour les *cirrhoses en amélioration*.

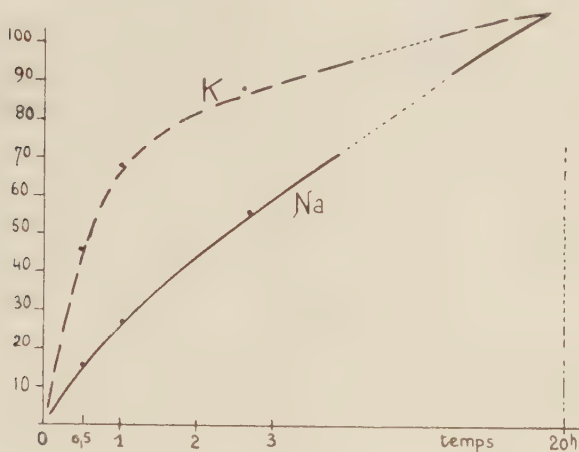
La diffusion du K^+ est extrêmement ralentie par rapport à celle du Na^+ . Le Potassium échangeable à 20 heures est nettement inférieur à la normale pour les deux



COURBES 4.

Comparaison des vitesses d'échange du K et du Na chez les cirrhotiques (en % du total échangeable).

sujets (31,5 mEq/kg pour 43,9 normalement). Chez le sujet 7 (en crise urinaire), le Sodium échangeable en 20 heures est redevenu normal.



COURBE 5.

$$\frac{\text{Activité spécifique ascite} \times 100}{\text{Activité spécifique plasma.}}$$

Le Na et le K ne diffusent que lentement dans l'ascite cirrhotique.
Pourcentage d'activité dans l'ascite par rapport au plasma
dans 3 cirrhoses.

2) DISCUSSION.

Cirrhoses graves.

a) Ces malades ne présentent pas le phénomène du retard de la diffusion du K^+ par rapport à celle du Na^+ , observé chez le sujet normal. Dans l'hypothèse où ce retard correspondrait au temps d'incorporation du K^+ dans les complexes organiques à renouvellement lent, ces complexes auraient une activité très diminuée, comme nous l'avons déjà supposé chez l'Addisonien.

b) La valeur importante du Sodium échangeable s'explique facilement par le volume de l'ascite et des œdèmes interstitiels. En supposant que le Na intracellulaire

ne soit pas modifié en concentration, cette augmentation de 87 % de la normale, correspondrait en moyenne à un excès de 17 litres de liquide extracellulaire à 140 mEq par litre. Ce chiffre est assez vraisemblable.

Le Sodium échangé est augmenté par rapport aux normaux dès 30 minutes, alors que le Na de l'ascite est presque exclu de l'échange à ce moment. Il est probable que, chez le cirrhotique, il existe un secteur sans doute cellulaire, échangeant rapidement avec le plasma.

FAUVERT a étudié des cirrhoses avec ascite et observé une augmentation de son premier espace de diffusion A. Les faits se correspondent ; mais il explique ce phénomène par l'existence d'un espace auxiliaire qu'il situe dans des territoires stagnants des régions œdémateuses. Ceci, bien qu'il ait observé dans des œdèmes sous-cutanés, que l'équilibre du Na^+ n'était pas atteint en 6 heures.

c) Le Potassium échangeable est presque normal : 42 mEq/kg en moyenne au lieu de 43,9 chez le sujet normal. L'augmentation des espaces interstitiels de 17 litres, à 5 mEq par litre, correspondrait à une élévation du K échangeable de 85 mEq. Le K échangeable cellulaire serait donc, en fait, encore plus réduit.

d) La diffusion du K^+ et du Na^+ entre le plasma et l'ascite est très lente. Dans les ascites que nous avons étudiées, l'équilibre du plasma s'établit tardivement après 3 h ; le Potassium diffuse d'ailleurs plus vite que le Sodium.

FAUVERT a décrit la lenteur de diffusion du Na^+ entre le plasma et le liquide d'ascite. Il distingue deux sortes de liquides suivant que l'équilibre est atteint en 1 heure ou en 4 heures. Pour expliquer ce retard de diffusion, étonnant pour un liquide rattaché aux espaces extracellulaires, nous pensons pouvoir supposer que l'ascite est en contact de façon très réduite avec le plasma.

Le fait que le K^+ diffuse plus rapidement que le Na^+

dans l'ascite concorde avec notre hypothèse. On sait en effet que l'ions K^+ hydraté est quatre fois plus petit que l'ion Na^+ et sa vitesse de diffusion physique est supérieure de 45 % à celle du Na d'après SOLLNER [69].

Or, si l'on compare les vitesses de diffusion du K à celles du Na pour les valeurs 30 minutes et 1 heure, c'est-à-dire les plus valables par suite des grandes différences entre plasma et ascite à ce moment), on constate que $\frac{d Na - d K}{d Na} \times 100$ sont respectivement de 45 % et 46 %.

$$d Na = \frac{As Na plasma - As Na ascite}{As Na plasma} \times 100$$

$$d K = id.$$

On peut donc penser que les espaces Na et K du compartiment ascitique ne seraient en contact avec le plasma, d'une part, que par des phénomènes de diffusion physique, d'autre part et surtout par une très petite surface d'échange.

Cirrhoses en amélioration.

Chez les deux malades on observe une grande différence entre les diffusions du K^+ et du Na^+ . La Cortisone, qui ralentit au maximum la vitesse d'expansion du K, n'est pas aussi active que le processus observé chez ces cirrhotiques en voie de guérison.

Chez le malade en crise urinaire, le métabolisme du Sodium est redevenu complètement normal.

F) Signification physiologique des résultats obtenus.

L'étude des moyens classiques de mesure des compartiments corporels par les méthodes de diffusion nous avait conduit à poser le dilemme suivant. Les méthodes utilisant des temps de diffusion courts (Thiocyanate, ou Na^+ diffusés en moins de 3 heures) donnent des résultats assez cohérents sur le sujet normal, mais peu inter-

prétables en pathologie. Les méthodes mesurant les capitaux totaux échangeables en 20 heures et plus, permettent de bonnes mesures, mais varient peu dans les divers états pathologiques, c'est-à-dire qu'elles manquent d'intérêt.

La méthode que nous avons utilisée a mis en évidence quelques faits que nous pensons pouvoir interpréter ainsi.

1°) Le retard que subit normalement l'expansion du K par rapport au Na est sous le contrôle des corticoïdes : il n'existe plus dans l'insuffisance surrénale et est accru par la Δ déhydroCortisone comme par la Cortisone.

Dans la cirrhose grave, le ralentissement de la diffusion du K^+ n'existe plus, alors que, lorsque le cirrhotique fait sa crise urinaire, il possède à un degré considérable le pouvoir de laisser le Na^+ diffuser rapidement et de ralentir la diffusion du K^+ .

Dans la ligne de la théorie de LING sur la permselectivité cellulaire, ces deux séries de faits mettraient en évidence, *in vivo*, deux régulations des complexes organiques probablement phosphorés, maintenant les différences de répartition du Na^+ et du K^+ dans les compartiments de l'organisme.

2°) L'étude de la diffusion conjointe du Na^+ et du K^+ dans l'ascite cirrhotique nous a montré que tout se passait comme une simple diffusion physique, le K^+ allant plus vite que le Na^+ , comme la taille de son ion hydraté l'explique. Cependant la lenteur de la diffusion de ces deux ions dans l'ascite conduit à supposer que la surface de contact entre les vaisseaux et l'ascite est fort réduite.

3°) La mise en évidence d'un espace Na agrandi dans les cirrhoses ascitiques, est un fait déjà bien établi. Les particularités du compartiment ascitique et de la diffusion du Na avaient été observées par FAUVERT et LOVERDO. Le fait que le cirrhotique ait d'une part un compartiment ascitique où le Na ne diffuse que lente-

ment et une intensité accrue du Na échangé en 30 minutes et 1 heure, nous fait penser qu'un compartiment sodique à échange rapide, n'appartenant pas aux œdèmes ascitiques, peut-être cellulaire, peut exister chez le cirrhotique.

CONCLUSIONS.

Nous avons, au début de ce travail, fait l'étude critique des mesures d'espaces et de masse totale échangeable, à la lumière des théories récentes sur la sélectivité cellulaire. Nous avons alors choisi d'étudier la vitesse de diffusion du Potassium par rapport à celle du Sodium, ces deux ions ayant des métabolismes différents mais souvent dépendants.

I. — Pour pouvoir mesurer conjointement la diffusion du Na et du K radioactifs, nous nous sommes d'abord efforcé de résoudre le problème technique de séparation des radioisotopes.

1°) Le ^{24}Na et le ^{42}K ont des périodes voisines qui ne permettent pas leur séparation.

Ils présentent, par contre, des « spectres d'énergie » assez différents : le Na^* ayant un rayonnement β de faible énergie et de deux rayonnements γ ; le K^* ayant deux rayonnements β plus énergiques et un seul rayonnement γ .

Nous avons utilisé un écran d'aluminium pour séparer, dans les urines, les radioisotopes par leurs rayonnements β ; mais la séparation est incomplète et peu précise.

Nous avons pu mesurer les rayonnements γ avec un compteur à scintillation comprenant un séparateur d'amplitudes. La sélectivité est bonne mais le rendement mauvais, ce qui diminue la précision.

En couplant deux mesures de types β et γ , le rendement se trouve un peu amélioré, sans que la précision soit supérieure.

2°) Les précipitations chimiques usuelles du Na^+ et du K^+ fournissent des produits peu purifiés ou bien ne permettent pas la séparation des radioéléments : le surnageant de la précipitation d'un des ions n'est pas utilisable pour doser l'autre.

Nous avons étudié la précipitation du K^+ par la dipi-crylamine. Nous avons pu l'appliquer aux radioéléments en modifiant les modalités de précipitation et de lavage, mais cette méthode est longue et délicate.

3°) La méthode de chromatographie par échanges d'ions, que nous avons pu mettre au point, permet une séparation complète, facile et assez rapide. En 5 heures, nous séparons dans le plasma, le K^+ avec moins de 1 mEq % de Na^+ et le Na^+ avec moins de 1 mEq pour 2000 de K^+ .

Nous avons précisé les modalités de fixation pour plusieurs types de résine, puis les caractéristiques de l'élution suivant le débit, le titre de l'acide et les dimensions de la colonne de chromatographie.

Nous employons finalement des colonnes de 75 mm sur 14 mm de diamètre contenant du Dowex 50-12 X-100 à 200 Mesch. L'élution est faite avec HCl 0,24 N puis 0,9 N à raison de 1,4 ml par minute.

II. — La séparation chromatographique nous a permis la mesure conjointe des radioisotopes. Nous avons pu proposer une épreuve biologique, qui après injection intraveineuse de ^{24}Na et de ^{42}K , nous permet de suivre dans le plasma, au bout de 0,5 — 1 h — 2 h — 3 h et 20 h l'augmentation des quantités échangées des deux ions.

$$\text{Les mEq échangés} = \frac{\text{Radioactivité injectée} - \text{Radioactivité excrétée}}{\text{Activité spécifique du plasma}}$$

En rapportant aux mEq échangés en 20 h, nous calculons les pourcentages de Na et de K échangés suivant le temps. Ces pourcentages expriment les vitesses d'expansion des deux ions.

1°) La précision de notre méthode est déterminée à $\pm 7 \%$.

a) Nous faisons l'étude critique des mesures de radio-activité aux compteurs sec et liquide. Il faut compter environ 8000 impulsions en un temps allant de 2 à 15 minutes pour obtenir 1 % de précision.

Les calculs de décroissance sont expliqués et les protections contre les radiations mises en valeur.

b) L'étude de la photométrie de flamme nous a montré l'influence du solvant et notamment de ClH qui diminue la déviation photométrique due au K^+ ou au Na^+ .

Nous avons analysé l'action d'autres acides et de divers chlorures sur les déviations photométriques. Nous pensons pouvoir rapporter l'action de ClH non pas à l'acidité, mais à l'ion Cl^- qui agirait sur la température de la flamme.

2°) Les résultats obtenus par notre méthode chez des sujets normaux et pathologiques recoupent les mesures d'espaces et d'échangeable de la littérature. Mais il nous permettent de plus de préciser les compartiments métaboliques du Na^+ et du K^+ .

a) Nous avons observé :

1) chez des sujets normaux : un retard de l'expansion du K^+ par rapport à celle du Na^+ ;

2) chez des Addisoniens : des courbes d'expansion du Na^+ et du K^+ pour ainsi dire confondues,

— un Na échangé nettement plus faible que celui du sujet normal, à tous les temps, mais surtout au début de la diffusion ;

— un K échangé, diminué surtout après 3 heures ;

3) chez des sujets traités aux dérivés cortisoniques : un retard de l'expansion du K^+ par rapport à celle du Na^+ , accru par rapport à celui des sujets normaux ;

4) chez des cirrhotiques avec ascite :

— des courbes d'expansion du K^+ et du Na^+ presque identiques, comme chez l'Addisonien ;

— une diffusion très lente entre le plasma et le liquide d'ascite qui s'équilibrent en plus de 3 heures ;

— un Sodium échangé très élevé même dans la première heure alors que l'équilibre avec l'ascite est loin d'être atteint.

b) Ces faits pourraient être interprétés ainsi :

1°) Des complexes organiques cellulaires du type : protéines-dérivés phosphorés-Potassium ralentiraient normalement la diffusion du K^+ par rapport au Na^+ . Ces complexes, plus actifs dans les traitements aux dérivés cortisoniques et dans les cirrhoses en crise urinaire disparaîtraient chez les Addisoniens et les cirrhotiques graves.

2°) La diffusion, très lente dans le liquide d'ascite, pourrait s'expliquer par une très petite surface de contact entre les vaisseaux et l'ascite. L'échange du K^+ et du Na^+ s'y ferait simplement par des phénomènes de diffusion physique.

3°) Chez le cirrhotique, l'augmentation du Na échangé dès 30 minutes, permettrait d'envisager l'existence d'un secteur, sans doute cellulaire, qui échangerait rapidement avec le plasma.

BIBLIOGRAPHIE.

1. ACHARD (C.), -- *Traité de Physiologie*, Masson 1934, 7, 351.
2. AIKAWA (J. K.), HARRELL (G. T.), EISENBERG (B.). — *J. Clin. Investig.*, 1952, 31, 367.
3. ARONS (W. L.), SOLOMON (A. K.). — *J. Clin. Investig.*, 1954, 33, 995.
4. ARONS (W. L.), VANDERLINDE (R. J.), SOLOMON (A. K.). — *J. Clin. Investig.*, 1954, 33, 1001.
5. BERTRAND (G.), BERTRAND (D.). — *Ann. Institut Pasteur*, 1951, 80, 339.
6. BEUKENKAMP (J.), RIEMAN (W.). — *III. Anal. Chem.*, 1950, 22, 582.
7. BLANCHETIÈRE. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, 33, 807.
8. BOYLE (P.), CONWAY (E. J.). — *J. Physiol.*, 1941, 100, 1.
9. BURCH (G. E.), REASER (P. B.), CRONVICH (J.). — *J. Laborat. Clin. Med.*, 1947, 22, 1169.
10. CACHERA (H.), BARBIER (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1175.
11. CACHERA (R.), BARBIER (P.). — *Paris Méd.*, 1942, 32, 39.
12. CACHERA (R.), LAMOTTE (M.). — *Sem. Hôp. Paris*, 1950, 500.
13. COHN (W. E.), KOHN (H. W.). — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1948, 70, 1896.
14. COLIN (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1951, 33, 394.
15. CORSA (L.), OLNEY (J. M. jr), STEENBURG (R. W.), BALL (M. R.), MOORE (F. D.). — *J. Clin. Investig.*, 1950, 29, 1280.
16. DARROW (D. C.), YANNET (H.). — *J. Clin. Investig.*, 1935, 14, 266.
17. DEANE (N.), SMITH (H. W.). — *J. Clin. Investig.*, 1952, 31, 197.
18. DIXON (K.). — *Biochem. J.*, 1949, 44, 187.
19. DUIZEND (M.). — *Th. Doct. Méd.*, Paris, 1950.
20. EDELMAN (I. S.), JAMES (A. H.), BADEN (H.), MOORE (F. D.). — *J. Clin. Investig.*, 1954, 33, 122.
21. FAUVERT (R.), LOVERDO (A.). — *Sem. Hôp. Paris*, 1950, 3, 132.
22. FENN (W.), COBB (D. M.). — *Amer. J. Physiol.*, 1936, 115, 345.
23. FORBES (G. B.), PERLEY (A.). — *J. Clin. Investig.*, 1951, 30, 558.
24. GAMBLE (J. L.). — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1937, 61, 174.
25. GAUDINO (M.), LEVITT (M. F.). — *Amer J. Physiol.*, 1949, 157, 387.

26. GIBSON (J. G.). — *New. Engl., J. Med.*, 1936, 214, 607.
27. GOLDZIEHER (J. W.), STONE (G. C. H.). — *J. Clin. Endocrin.*, 1949, 9, 95.
28. GREGOR (H. P.). — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1951, 73, 642.
29. HAMBURGER (J.), MATHÉ (G.). — *Métabolisme de l'eau*. Flammarion, 1952.
30. HEVESY (G.). — *Acta Physiol. Scand.*, 1942, 3, 123.
31. HEVESY (G.). — *Acta Physiol. Scand.*, 1951, 24, 285.
32. JAMES (A. H.), BROOKS (L.), EDELMAN (I. S.), OLNEY (J. M.), MOORE (F. D.). — *Metabolism.*, 1954, 3, 313.
33. JUŠTIN-BESANÇON (L.), LAMOTTE (M.), LAMOTTE-BARRILLON (S.), BARBIER (P.), PAUPE (J.). — *Sem. Hôp. Paris*, 1956, p. 1.
34. KAHANE (E.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, 10, 1133.
35. KALTREIDER (M. L.), MENEELY (G. R.), ALLEN (J. R.), BALE (W. F.). — *J. Exper. Med.*, 1941, 74, 569.
36. KATHEN (H.), LANG (K.). — *Biochem. Z.*, 1948, 318, 425.
37. KAYAS (G.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1949, 228, 1002.
38. KAYAS (G.). — *J. Chim. Phys.*, 1950, 47, 408.
39. KREBS (H. A.), EGGLESTON (L. V.). — *Biochem. J.*, 1949, 44, vii.
40. KREBS (H. A.), EGGLESTON (L. V.), TERNER (C.). — *Biochem. J.*, 1950, 47, 139.
41. LEULIER (A.), VELLUZ, GRIFFON (H.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, 10, 891 et 1238.
42. LEULIER (A.), BERNARD. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1934, 361, 1663.
43. LEVI (H.), USSING (H. H.). — *Acta Physiol. Scand.*, 1948, 16, 232.
44. LEWIS (P. R.). — *Analyst.*, 1955, 80, 768.
45. LING (C. N.). — *Phosphorus Metabolism*, Hopkins Univ. Press, 1952, 2, 748.
46. LOVE (W. D.), ROMNEY (R. B.), BURCH (G. E.). — *Circulation Research*, 1954, 2, 112.
47. MAC CANCE (R. A.), SHIPP (H. L.). — *Biochem. J.*, 1931, 25, 449.
48. MACH (R. S.), ODIER (J.). — *Schweiz. Med. Wschr.*, 1946, 76, 579.
49. MANERY (J. F.). — *Amer. J. Physiol.*, 1940, 129, 417.
50. MANERY (J. F.), BALE (W. F.). — *Amer. J. Physiol.*, 1941, 132, 215.
51. MARSHALL (E. K.), DAVIS (D. M.). — *J. Biol. Chem.* 1914, 18, 53.
52. MILLER (F.), WILSON (G. M.). — *Clin. Sci.*, 1953, 12, 97.
53. MOREL (F.). — *Helv. Physiol. Acta*, 1950, 8, 146.
54. MOREL (F.), SERELL (F.). — *J. Physiol.*, 1951, 43, 263.
55. MOREL (F.). — *Helv. Physiol. Acta*, 1955, 13, 276.
56. MOORE (F. D.). — *Science*, 1946, 104, 157.
57. MOORE (F. D.), EDELMAN (I. S.), OLNEY (J. M.), JAMES (A. M.), BROOKS (L.), WILSON (G. M.). — *Metabolism*, 1954, 3, 335.
58. MUDGE (G.). — *Amer. J. Physiol.*, 1951, 165, 113 et 167, 208.

59. MUDGE (G.) — *Lancet*, 1953, 73, 166.
 60. NATIONAL BUREAU OF STANDARDS, Washington, *Handbook*, 52.
 61. NORDMANN (J.), NORDMANN (R.), GAUCHERY (O.) — *Ann. Biol. Clin.*, 1953, 1-2, 30.
 62. PACU M. — *Thèse Doct. Pharmacie*, Paris, 1932.
 63. POULAIN (P.), PIETTE (M.) — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1948, 30, 496.
 64. RAKER (J. W.), TAYLOR (I. M.), WELLER (J. M.), HASTINGS (A. B.) — *J. Gen. Physiol.*, 1950, 33, 691.
 65. ROBINSON (C. V.), ARONS (W. L.), SOLOMON (A. K.) — *J. Clin. Investig.*, 1955, 34, 134.
 66. ROURKE (M. D.) — *J. Biol. Chem.*, 1928, 78, 337.
 67. SHEPPARD (C. W.), MARTIN (W. R.) — *J. Gen. Physiol.*, 1950, 33, 703.
 68. SOBERMAN (R. J.), BRODIE (B. B.), LEVY (B. B.), AXELROD (J.), HOLLANDER (V.), STEELE (J.) — *J. Biol. Chem.*, 1949, 31, 179.
 69. SOLLNER (K.), DRAY (S.), GRIM (E.) et NEIKOF (R.) — *Ion transport across membranes*. Académic Press, 1954, 144.
 70. SOLOMON (A. K.) — *J. Gen. Physiol.*, 1952, 36, 57.
 71. STEINBACH (H. B.) — *Ann. Review Physiol.*, 1951, 13, 21.
 72. STOLKOWSKI (J.), REINBERG (A.) — *Arch. Sc. Physiol.*, 1953, 7, 151.
 73. SWEET (R. C.), RIEMAN (W.) III, BEUKENKAMP (J.). — *Ann. Chem.*, 1952, 24, 952.
 74. THREEFOOT (S. A.), BURCH (G. E.), REASER (P. B.). — *J. Lab. Clin. Med.*, 1949, 34, 1.
 75. TRÉMOLIÈRES (J.), DERACHE (R.), KHOURY (P.). — 1953 (non publié).
 76. TRÉMOLIÈRES (J.), DERACHE (R.), GRIFFATON (G.). — *Ann. Endocrinol.*, 1954, 15, 836.
 77. TYOR (M. P.), ELDRIDGE (J. S.). — *Amer. J. Med. Sc.*, 1956, 232, 186.
 78. USSING (H. H.). — *Ann. Rev. Physiol.*, 1953, 15, 1.
 79. VALANCIA (R.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1956, 38, 1071.
 80. WALKER (W. G.), WILDE (W. S.). — *Amer. J. Physiol.*, 1952, 170, 401.
 81. WARNER (G. F.), DOBSON (E. L.), RODGERS (C. E.), JOHNSTON (M. E.), PAGE (H.). — *Circulation*, 1952, 5, 915.
 82. WEST (PH. W.), FOLSE (P.), MONTGOMERY (D.). — *Anal. Chem.*, 1950, 22, 722.
 83. WILDE (W. S.). — *Amer. J. Physiol.*, 1945, 143, 666.
 84. WINKLER (A. W.), ELKINGTON (J. R.), EISENMAN (A. J.). — *J. Physiol.*, 1943, 139, 239.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION	7
CHAPITRE I. — Généralités sur les mesures des espaces diffusibles	9
CHAPITRE II. — Principes de la méthode et conditions expérimentales	20
CHAPITRE III. — Séparation physique du Radio-Sodium et du Radio-Potassium	25
CHAPITRE IV. — Séparation des ions radioactifs par précipitation chimique	33
CHAPITRE V. — Séparation par chromatographie d'échange d'ions	41
CHAPITRE VI. — Technique personnelle de mesure des vitesses de diffusion du Na^+ et du K^+	53
CHAPITRE VII. — Discussion de la technique proposée .	
1) Etude critique des mesures de radioactivité ..	60
2) Etude critique des mesures de photométrie de flamme, Influence de ClH ,	65
3) Précision de la technique	73
CHAPITRE VIII. — Résultats normaux et pathologiques. Signification physiologique	78
CONCLUSIONS	100
BIBLIOGRAPHIE	104

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

Métabolisme de l'acide urique

Vu et approuvé :

Paris, le 27 Mai 1957.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

R. FABRE.

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

J. SARRAILH.

Imprimerie M. Declume, Lons-le-Saunier. — 622-58-250
Octobre 1958. « Dépôt légal 4^e trimestre 1958 — n° 4849 »

